

МНОГОГРАННЫЙ НОТОБРАНХИУС

Обзор

© 2022 Е.В. Булавкина^{1,2}, А.А. Кудрявцев², М.А. Гончарова², М.С. Ланцова²,
А.И. Шувалова², М.А. Ковалев², А.В. Кудрявцева^{1,2*}

¹ Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН,
Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины,
119991 Москва, Россия; электронная почта: rhizantoeba@mail.ru

² Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН,
лаборатория постгеномных исследований, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 03.11.2022

После доработки 11.11.2022

Принята к публикации 11.11.2022

Научный интерес к короткоцикловым рыбам рода *Nothobranchius* с каждым годом стремительно возрастает. Всесторонне исследуются самые разные аспекты жизнедеятельности этих икромечущих карпозубых и особенно их старение. Обитание в пересыхающих водоёмах Африки редко позволяет нотобранхиусам пережить более одного сезона дождей, поэтому естественный отбор не был направлен на длительное выживание взрослых особей, что привело к снижению эффективности системы репарации ДНК. Старение нотобранхиусов изучается как в норме, так и при воздействии потенциальных геропротекторов, а также генетических модификаций. Большая часть биogerонтологических исследований проводится на *Nothobranchius furzeri* (изолят GRZ) с продолжительностью жизни 3–7 месяцев. Однако перечень модельных видов нотобранхиусов существенно шире, а спектр передовых научных направлений с их участием выходит далеко за пределы геронтологии. В обзоре рассматриваются наиболее интересные и перспективные направления, развивающиеся благодаря рыбам рода *Nothobranchius*. Затрагиваются как классические исследования, связанные с контролем продолжительности жизни, так и относительно новые, включающие специфику протекания диапаузы, сложности систематики и филогении, становление механизмов определения пола, изменение количества хромосом, появление в геноме множества повторяющихся последовательностей ДНК, когнитивно-поведенческие особенности и социальную стратификацию, а также методические сложности при работе с нотобранхиусами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: старение, животные модели старения, *Nothobranchius*, возраст-зависимые заболевания, диапауза, нейродегенерация, продолжительность жизни, долголетие, видообразование, карิโอ-тип, стресс.

DOI: 10.31857/S0320972522120120, **EDN:** NHENPO

ВВЕДЕНИЕ

Современная геронтология, как фундаментальная, так и прикладная, немислима без исследований, проводимых на рыбах рода *Nothobranchius* [1–5]. Самый короткоживущий представитель рода, *Nothobranchius furzeri* Jubb, 1971 (изолят GRZ) успеваеет состариться и умереть естественным образом всего за 3–7 месяцев (не больше 12 месяцев для вида в целом), что открывает огромные перспективы в исследовании генетических и биохимических основ процесса старения, а также в разработке

методической платформы для тестирования потенциальных геропротекторов и анализа механизма их действия на позвоночных животных [6–8]. Ранее исследования были сфокусированы на таких моделях, как *Caenorabditis elegans* и *Drosophila melanogaster* [9–13], однако при поиске геропротекторных интервенций для человека лучше использовать более эволюционно близкие модельные организмы. При использовании эволюционно далёких моделей намного выше риск с самого начала отказаться от интервенций, способных хорошо работать на человеке. Помимо этого, тестирование на

* Адресат для корреспонденции.

позвоночных животных является обязательным этапом исследований после проведения экспериментов на беспозвоночных. Поэтому использование нотобранхиусов позволяет сократить срок разработки лекарственных препаратов. Самые популярные модельные животные среди позвоночных живут долго: грызуны живут 2–3 года, а *Danio rerio* – до 4–5 лет. Таким образом, нотобранхиусы стали для геронтологов ценной находкой [5, 14], тем более что один из важнейших принципов биоэтики относительно выбора модельного животного гласит, что по возможности следует проводить эксперимент на организме, находящемся на как можно более низком уровне эволюционного развития.

Тестирование экспрессии генов в различных тканях, анализ микробиома кишечника, а также оценка когнитивно-поведенческих детерминант при исследовании геронпротекторов позволяют комплексно изучать влияние на организм различных интервенций [15, 16] и работать в области продления активной фазы жизни, т.е. обеспечивать активное долголетие [17, 18]. В условиях демографического перехода в Российской Федерации и многих европейских странах такие вопросы становятся архиважными.

Преимущества нотобранхиусов не ограничиваются исследованием механизмов старения. Существует множество удивительных особенностей, свойственных представителям этого рода, которые привлекают к себе внимание учёных. Например, тонкая регуляция процессов входа эмбриона в диапаузу и выхода из неё, что необходимо для коррекции периода нахождения в стадии икры до момента наступления погодных условий, подходящих для выклева малька (сезона дождей) [19–21]. Изучение способности к почти полному выключению метаболизма крайне важно для разработки подходов к освоению человеком космического пространства.

В обзоре рассмотрены наиболее перспективные направления изучения нотобранхиусов, интересующие исследовательские группы по всему миру – от полового поведения и социальной иерархической системы до особенностей структуры и функционирования генома.

ПРОБЛЕМЫ СИСТЕМАТИКИ И ЭВОЛЮЦИИ РОДА *Nothobranchius*

Представители рода *Nothobranchius* Peters, 1868 – стенотопные икромечущие костистые рыбы, обитающие в пересыхающих пресноводных водоёмах на территории Африки и

относящиеся к семейству Нотобранхиевых (*Nothobranchiidae*), отряду Карпозубообразных (*Cyprinodontiformes*). Род *Nothobranchius* довольно большой: описано несколько десятков валидных видов, каждый год к ним добавляются новые. Территория распространения рода *Nothobranchius* сравнительно небольшая, условия существования сильно ограничены факторами внешней среды, однако экологические ниши разных видов практически не различаются.

Исследователей интересуют прежде всего причины и механизмы формирования такого «высокого» видового разнообразия. Тематически связанным оказывается вопрос выбора оптимальных систематических признаков для разграничения видов в пределах рода *Nothobranchius*.

Каковы причины и механизм бурного видообразования в пределах рода *Nothobranchius*?

По этому вопросу уже сформировалась определённая гипотеза. Поскольку рыбы рода *Nothobranchius* населяют сезонно пересыхающие водоёмы в Центральной и Восточной Африке, их местообитание ограничено небольшими, малоподвижными водно-болотными угодьями, включающими поймы в верховьях рек, сезонно затопляемые долины, маршевые луга и русла медленно текущих мелких сезонных рек. Территория распространения нотобранхиусов также ограничивается областями с определённым составом грунта, так как для длительного сохранения икры необходимо, чтобы влага задерживалась в достаточном количестве. Нотобранхиусы были описаны в семи районах Африки: Нило-Судан, Виктория, Танганьика, Малави, Восточное побережье, Замбези и Конго [22]. Представители рода *Nothobranchius* являются эталонным примером аллопатрического видообразования. Оно происходит под влиянием изменений рельефа и обуславливает наличие весьма ограниченного ареала каждого вида при их общем большом количестве. Распространение рода в значительной степени совпадает с Восточно-Африканской рифтовой долиной, а геобиологический анализ подтверждает тектоническую гипотезу эволюции нотобранхиусов.

Видообразование прежде всего связано с накоплением изменений в геноме. Большое количество видов в пределах одного рода говорит о том, что для таксона в целом характерна высокая скорость накопления мутаций. Можно предположить, что у нотобранхиусов такая предрасположенность связана с ускоренным жизненным циклом, а точнее – с рано приходящей старостью, неизменно связанной с накоплением генетических ошибок в каждой

клетке организма [22]. Получается, что система репарации повреждений ДНК нотобранхиусов может не быть очень совершенной, так как организму не требуется, чтобы она в течение длительного периода его жизни исправляла ошибки. Естественный отбор не был направлен на решение такой задачи. Сочетание высокой частоты мутаций с генетическим дрейфом при коротком жизненном цикле, зависящем от сезонов дождей, в совокупности задали быстрые темпы видообразования [23]. Перечисленные признаки вместе с минимальным расхождением по экологическим нишам говорят о неадаптивном процессе видообразования в пределах рода *Nothobranchius* [24].

Какие таксономические признаки наиболее адекватны для разграничения видов нотобранхиусов? Систематика нотобранхиусов осложнена несколькими обстоятельствами. Прежде всего, не до конца очевидны видовые критерии, т.е. регулярно возникает вопрос, является ли новый изолят представителем уже известного вида, или он должен быть описан в качестве нового [25]. Эта проблема стоит довольно остро, так как почти каждая научная экспедиция возвращается с ранее не описанными видами нотобранхиусов. Важным диагностическим признаком является специфический паттерн окраски самцов [26]. Ситуация осложняется, с одной стороны, наличием различных цветовых морф одного и того же вида (например, у *N. furzeri*, *Nothobranchius korthause*, *Nothobranchius hassoni*), с другой стороны – существованием изолятов-двойников, фенотипически очень похожих, но имеющих различное количество хромосом.

Интересна существующая практика присвоения видовых эпитетов новым видам нотобранхиусов. Довольно часто новый вид называют в честь специалиста, который выделил изолят в природе и привёз его из экспедиции. При этом описанием вида занимаются совсем другие исследователи, как правило, даже не в соавторстве с первооткрывателем [27, 28]. Встречаются трогательные случаи, когда исследователи называют новые виды в честь близких, например, *Nothobranchius ditte* был описан известным исследователем короткоциклового рыб Béla Nagy и получил свой видовой эпитет в честь его жены Эдит [29].

В систематике одним из главных видовых критериев считается способность к свободному скрещиванию организмов и появлению плодovитого потомства, сохраняющего признаки вида в ряду поколений. Но при работе с нотобранхиусами проведение таких тестов в лабораторных условиях сильно ограничено отсутствием представительной биоресурсной коллекции.

В природных популяциях изредка встречается ситуация, когда на одной территории одновременно обитают разные виды нотобранхиусов. В литературе их называют симпатрическими видами. Однако, во-первых, обычно времени проведения экспедиции недостаточно для детального анализа видового состава водоёма и популяционных особенностей, а, во-вторых, идентификация потенциальных гибридов далеко не всегда возможна по причине отсутствия разработанной системы маркеров.

Большие надежды возлагались на молекулярную систематику, но и в этой области исследователи столкнулись со сложностями. Оказалось, что очень ограниченные ареалы распространения не дают возможности сформировать представление о внутривидовой межпопуляционной вариабельности, т.е. молекулярные методы не позволяют дать точный ответ на вопрос, являются ли похожие изоляты одним видом или разными. Однако можно с уверенностью заключить, что род *Nothobranchius* – это уникальный объект для исследования микроэволюции, и учёным ещё предстоит сделать в этой области много открытий [22].

В заключение следует отметить, что изучение флоры и фауны Африки осложняется стремительной урбанизацией территорий, приводящей к изменению условий среды и, следовательно, к сокращению биоразнообразия. Поэтому уже в ближайшем будущем планета может лишиться многих известных науке нотобранхиусов и потерять ещё даже не открытые виды этих удивительных организмов.

РАЗНООБРАЗИЕ КАРИОТИПОВ, ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА И ЭВОЛЮЦИОННОЕ СТАНОВЛЕНИЕ СИСТЕМЫ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА

В течение длительного времени, в догенетическую эру, кариология была важным инструментом систематики и позволяла найти дополнительные признаки там, где не хватало морфологических. Кариотипирование помогало также объяснить причины стерильности гибридов, обнаружить полиплоидизацию, определить половую принадлежность в раннем возрасте до появления фенотипических признаков. Однако специалисты по кариологии нотобранхиусов до сих пор не могут прийти к единому выводу даже по самым базовым вопросам. Дело в том, что кариотип различных представителей рода *Nothobranchius* характеризуется необыкновенно высокой вариабельностью [30]. Количество хромосом варьирует от 16 до 50.

Причины и механизмы возникновения такого разнообразия, а также направление эволюционного процесса вызывают огромный интерес исследователей. В настоящее время некоторая ясность в эти вопросы уже внесена, однако работ по исследованию кариотипа крайне немного, в связи с популярностью геномного секвенирования, вытесняющего кариотипирование.

Также представляют научный интерес механизмы определения пола у нотобранхиусов. Многие аквариумисты, которые содержали различные виды рода *Nothobranchius*, заметили, что при получении мальков и их последующем подращивании соотношение полов 1 : 1 не соблюдается почти никогда. Например, у *Nothobranchius guentheri* на 1 самку приходится около 5 самцов. Распространено также мнение, что в пределах рода *Nothobranchius* сосуществуют как механизмы определения пола факторами внешней среды, так и генетическая обусловленность полового статуса.

Самое передовое и популярное направление — это, несомненно, проведение омиксных исследований, прежде всего секвенирование генома и транскриптома [18]. Знание последовательности ДНК в геноме вида открывает широкие возможности молекулярно-генетических исследований, а также позволяет уточнить его положение на филогенетическом древе. Однако у нотобранхиусов сборка генома сильно осложняется наличием огромного количества повторов, происхождение и роль которых также вызывают жаркие дискуссии.

Как эволюционировал кариотип нотобранхиусов, и сколько хромосом было у предкового вида? Говоря о причинах и механизмах эволюции кариотипа нотобранхиусов, важно отметить, что хромосомные перестройки — естественное и частое явление при высокой скорости видообразования. Наиболее частые изменения связаны со смещением центромер на хромосомах и инверсиями, которые могут способствовать локальной адаптации за счёт подавления рекомбинации и, таким образом, накопления связанных адаптивных генов. Важно, что такие события часто приводят к генетической несовместимости, снижая фертильность гибридов, способствуя репродуктивной изоляции и видообразованию [31–34].

Описаны кариотипы более чем 65 видов [35]. Все известные нотобранхиусы диплоидны ($2n$), однако количество хромосом у разных видов варьирует от 16 до 50 (чаще всего 36, реже — 38) [36]. Эта особенность делает нотобранхиусов довольно привлекательной моделью для специалистов в области эволюции и экологии.

Учитывая колоссальный разброс в количестве хромосом у разных видов, сразу возникает предположение, что на каком-то этапе эволюции возникла полиплоидизация, после которой произошло расхождение дублированных хромосом по структуре и функциям. В этом случае виды с наименьшим количеством хромосом являлись бы наиболее эволюционно древними. Второй идеей было принятие «многохромосомных» видов (имеющих диплоидный набор более 38 хромосом, в том числе *N. ditte*, *Nothobranchius malaissei*, *Nothobranchius brieni*) в качестве предковых форм. Однако существующие филогенетические деревья, а также детальное изучение кариотипа различных видов свидетельствуют о том, что, скорее всего, предковой формой был вид с 38 хромосомами.

У подрода *Nothobranchius* [37] ($2n = 38$) изменения кариотипа происходили в основном путём перичентрических инверсий. Четыре вида — *N. furzeri*, *Nothobranchius kadleci*, *Nothobranchius orthonotus* и *Nothobranchius kuhntae* — отличались друг от друга соотношением одноплечих и двухплечих хромосом [35]. Для видов с числом хромосом меньше 38 характерна их редукция путём слияний. При этом в кариотипах видов с наименьшим числом хромосом (16 и 18 соответственно) преобладали двухплечие хромосомы (*Nothobranchius rachovii* — 16, *Nothobranchius krysanovi* — 18).

Для рода *Nothobranchius* характерно обилие не только внутривидовых, но и межвидовых перестроек. В хромосомной эволюции рода выявлены две основные тенденции: слияние хромосом (или, реже, расщепление на две хромосомы) и перичентрические инверсии [35].

Подводя итог, можно сказать, что, согласно современным взглядам, эволюционно первичным является набор хромосом $2n = 38$. Далее параллельно в нескольких группах рыб шли процессы уменьшения и увеличения количества хромосом. Все случаи с увеличенным количеством хромосом произошли независимо друг от друга. Механизмы увеличения числа хромосом связаны не с полиплоидизацией, а с расщеплением существующих хромосом на более мелкие. Процессы уменьшения количества хромосом эволюционно связаны с их слиянием.

Каким образом у разных видов нотобранхиусов определяется пол? Среди описанных кариотипов представителей рода *Nothobranchius* у пяти видов были описаны морфологически различимые половые хромосомы, а именно у *N. guentheri* [38], *N. brieni* [36], *Nothobranchius lourensi*, *Nothobranchius janpapi* и *N. ditte* [35]. Однако у всех изученных видов различается даже

хромосомный механизм определения пола. Рассмотрим, например, генотип *N. brienii* [36]. Количество хромосом *N. brienii* у самцов составило $2n = 49$, у самок – $2n = 50$. Женский кариотип состоял из 25 пар акроцентрических хромосом, постепенно уменьшающихся в размерах. Мужской кариотип состоял из 23 пар акроцентрических хромосом, одной двуплечей пары и двух непарных акроцентрических хромосом. В хромосомах первого мейоза при сперматогенезе наблюдалось 23 бивалента и тривалента при диакинезе. Таким образом, вид *N. brienii* – обладатель многополой хромосомной системы типа $X_1X_2Y/X_1X_1X_2X_2$. Одна двуплечая нео-Y-хромосома, скорее всего, возникла в результате робертсоновского слияния между Y-хромосомой и аутосомой, как это было описано для других видов рыб [39]. У *N. brienii* и *Nothobranchius* sp. «Kasenga» Y-хромосома является крупной метацентрической, а X_1 - и X_2 -хромосомы – акроцентрическими разного размера [39]. У четырёх неблизкородственных видов в под родах *Zononothobranchius* (*N. brienii*) и *Adiniops* (*N. guentheri*, *N. lourensi* и *N. janpapi*) [40] множественные половые хромосомы, предположительно, возникли независимо друг от друга [35].

У некоторых видов не удаётся выделить морфологически различимые половые хромосомы, однако идентифицированы SDR-локусы – последовательности ДНК, конкретные различия в которых определяют пол особи. В качестве примера рассмотрим вид *N. furzeri*, который имеет XY-систему определения пола, причём его половые хромосомы практически неразличимы морфологически. Самцы являются гетерогаметным полом, несущим уникальную версию гена *gdf6*, являющегося представителем семейства факторов роста TGF- β и запускающего развитие по мужскому типу [41]. Y-вариант *gdf6* отличается от X-варианта наличием 15 аминокислотных замен и 3 делеций. Важно отметить, что замены произошли в высококонсервативной для позвоночных области, это свидетельствует о сильной положительной селекции в сторону накопления мутаций в этом гене.

Сразу после выклева оба аллеля *gdf6* экспрессируются в сопоставимой степени, однако спустя уже 3 дня экспрессия у самцов значительно превышает экспрессию у самок. У взрослых рыб проходит зависимость от пола экспрессия *gdf6*: тогда как в яичниках у самок его экспрессия очень низка, в семенниках у самцов он детектируется, что может быть связано с ещё одной делецией, произошедшей в 3'-UTR и вырезавшей сайт связывания

miR-430 – важного регулятора экспрессии генов в половой линии у рыб [41]. Конкретный механизм действия *gdf6* и распространённость системы определения пола с его участием у других видов нотобранхиусов требуют дальнейшего изучения. Наличие таких разнообразных систем половых хромосом делает род *Nothobranchius* перспективной моделью для исследования путей становления генетической детерминации пола.

Почему же все-таки у *N. guentheri* соотношение самцов и самок всегда настолько далеко от ожидаемого 1 : 1? Скорость роста и, как следствие, размеры тела самцов превышают аналогичные показатели у самок, поэтому при совместном выращивании мальков самки не выдерживают конкуренции и либо становятся «ползунами», либо поедаются более крупными особями. Как только в нашей лаборатории начали сортировать мальков согласно их размеру в пределах одного контейнера, соотношение полов сразу приблизилось к эталонному и составило 1 : 1.

Чем необычен геном нотобранхиусов? Развитие методов высокопроизводительного секвенирования позволило не только секвенировать геномы нескольких видов рода *Nothobranchius*, но и перейти к работам в области функциональной геномики. Всё шире применяется анализ транскриптома, исследуются и некодирующие РНК, метилом и состав сообществ микроорганизмов, населяющих главным образом желудочно-кишечный тракт [16]. Анализ бактериального состава кишечника может выполняться как культуральными методами, так и при помощи высокопроизводительного секвенирования [16, 42], позволяя анализировать метаболический потенциал микроорганизмов и их влияние на метаболизм хозяина.

Гаплоидный геном *N. furzeri* состоит из 19 хромосом ($2n = 38$). Размер генома составляет примерно ~1,5 млрд п.н. [41], при этом аннотировано более 22 000 белок-кодирующих генов [43]. Секвенирование генома значительно упростило применение молекулярно-биологических методов и подходов. Для наиболее короткоживущего и востребованного изолята *N. furzeri* GRZ на основе анализа генома был сделан вывод о высоком уровне инбредности. Было показано, что геном *N. furzeri* содержит высокую долю повторов, достигающую 45%, что очень велико для костистых рыб [41, 43]. Эта особенность усложняет сборку генома нотобранхиусов, однако эволюционное происхождение такой специфической черты и её роль в жизнедеятельности этих рыб крайне интересны. Наша гипотеза сводится к тому, что

происхождение большого количества повторов ассоциировано с повышенной активностью элементов генома, способных к транспозиции. Повышенную активность транспозонов мы наблюдали, в частности, при сопоставлении транскриптомов самцов *N. guentheri* разного иерархического статуса. Транспозоны содержат в своём составе регуляторные последовательности, оказывающие *цис*- и *транс*-воздействие на экспрессию специфических белок-кодирующих генов. Таким образом, они способны изменять механизмы морфогенеза, играя роль в адаптации организма к факторам окружающей среды.

В геноме *N. furzeri* представлены тандемные повторы, подвижные элементы (транспозоны и ретротранспозоны), псевдогены и сегментные дубликации. Среди них тандемные повторы составляют рекордные 20% генома, что сильно выделяет *N. furzeri* среди других рыб. Среди тандемных повторов особенно широко представлены два GC-богатых минисателлита, локализующиеся в перичентромерных регионах и имеющие длину 77 и 49 нуклеотидов. Возле центромера также локализуется имеющая широкое распространение сателлитная последовательность, состоящая из 348 нуклеотидов с низким содержанием GC.

Подвижные элементы занимают ~ 25% генома и представляют собой важную особенность генома *N. furzeri* [41].

Как ядерный, так и митохондриальный геном нотобранхиусов имеют большие размеры относительно родственных видов рыб, не являющихся короткоцикловыми. Увеличение размера ядерного генома в значительной степени обусловлено повышенным количеством элементов генома, способных к транспозиции, причиной которого может быть генетический дрейф. Митохондриальный геном у *N. furzeri*, также увеличенный (>19,5 кб) по сравнению с другими позвоночными (~16 кб), характеризуется большей суммарной длиной некодирующих областей [43].

Вариабельность кариотипа в пределах рода *Nothobranchius* очень велика по сравнению с другими родами костистых рыб [44, 45], что предполагает возникновение в процессе эволюции событий, связанных с частой крупномасштабной реструктуризацией геномов, что также соотносится с бурным видообразованием в пределах рода *Nothobranchius* [43].

АДАПТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ НОТОБРАНХИУСОВ

В естественных местообитаниях нотобранхиусы практически постоянно находятся в

окружении агрессивных факторов внешней среды. В процессе эволюции они смогли выработать ряд адаптационных механизмов, которые помогают им успешно выживать и активно эволюционировать. Детальная расшифровка этих механизмов интересует огромное количество исследователей, поскольку важна не только в фундаментальном аспекте, но имеет и важный прикладной потенциал.

Какие основные направления адаптаций отличают нотобранхиусов? Условия существования нотобранхиусов в сезонно засушливых местообитаниях африканских саванн отличаются чрезвычайной изменчивостью. Многие факторы изменяются очень быстро и в очень широком диапазоне значений (например, суточные колебания температуры от 14 до 37 °C) [1]. Для того чтобы выживать в таких условиях, животные должны сформировать особые механизмы адаптации. По-видимому, нотобранхиусы имели некую преадаптацию к условиям обитания в составе эфемерной фауны, поскольку их геном содержит довольно много мобильных элементов, способных к транспозиции и опосредующих, таким образом, инсерционный мутагенез. Этот процесс лежит в основе изменений геномов при естественном отборе [46]. В эволюции свойство транспозонов перемещаться в специфические сайты генома, регулировать экспрессию генов и взаимодействовать с транскрипционными факторами, наряду со способностью реагировать на экологические стрессоры, является основой для быстрой изменчивости и видообразования за счёт модулирования управления онтогенезом. Таким образом, нотобранхиусы приспособились к постоянно меняющимся условиям, в том числе за счёт увеличения количества транспозонов в геноме.

Помимо этого, представители рода *Nothobranchius* обладают уникальным набором репродуктивных адаптаций, одна из которых — наличие диапаузы, т.е. способности эмбрионов в определённые периоды существенно затормаживать обмен веществ. Одним из основных преимуществ является возможность регуляции общего времени нахождения эмбриона в защитной оболочке икры, что критически важно при наличии флуктуаций в погодных условиях из года в год [44, 45].

Помимо регуляции временного периода, важным адаптационным механизмом стало выживание эмбрионов в условиях засухи благодаря возникновению толстой оболочки икры, строение и состав которой эволюционно сформировались в условиях окружения смектитовыми глинами. Икринки способны

сохранять влагу и развиваться в таком грунте в течение длительного периода времени. Именно гидроморфные свойства растрескивающихся глинистых субстратов определяют ключевую роль в неравномерном распространении этих видов в тропических ландшафтах. Рыбы рода *Nothobranchius* мечут икру в мягкий ил, который имеет типичные характеристики вертисоля. Критически важно, что входящие в состав минералы группы смектитов (главным образом монтмориллонит) обладают способностью поглощать молекулы воды в кристаллических слоях. В период засухи вода испаряется, образуя в почве глубокие трещины. Таким образом, в течение сухого сезона глубоко внутри этих растрескивающихся глин, которые поддерживают оптимально влажный микроклимат, икринки способны войти в состояние диапаузы и остаться жизнеспособными до следующего сезона дождей [26, 44]. Со временем, в процессе эволюции, диапауза стала не просто жизненно необходимой адаптацией для переживания засухи, но и приобрела дополнительную роль: прохождение стадий диапаузы необходимо для формирования здоровой особи.

Феномен диапаузы у позвоночных, и механизмы её контроля. Диапауза встречается преимущественно у беспозвоночных животных, поэтому её изучение на модели рыб является особенно ценным в аспекте потенциального практического применения результатов. Основная часть научных исследований диапаузы выполнена на родственниках нотобранхиусов из Южной Америки, срок развития их икры существенно меньше, однако принято считать, что механизмы должны быть во многом схожими.

Выделяют три стадии диапаузы, которые в целом рассматриваются как этапы одного процесса, однако их продолжительность может существенно варьировать. Такая система подразумевает различные регуляторные механизмы для каждой стадии диапаузы. Важную роль в регуляции прохождения этих стадий играют условия окружающей среды [47]. Были изучены и молекулярные механизмы, определяющие возможность протекания диапаузы, например, её зависимость от сигнального пути витамина D [21]. Сделано предположение, что существует специальный путь для интеграции информации об окружающей среде и её преобразования в программы развития, связанные с эволюционными преобразованиями у животных. В роли сигнальных молекул рассматривают 7-дигидрохолестерин-производные гормоны и связанные с ними ядерные рецепторы.

В природе диапауза I происходит ещё в сезон дождей (во время дисперсионной фазы

перед гастрულიацией), на этом этапе пул эмбрионов развивается синхронно. Синхронно он входит и в диапаузу II, которая начинается в середине сомитогенеза, в период формирования большинства органов. Это случается уже во время засушливого периода. Диапауза II характеризуется снижением синтеза белка, остановкой клеточного цикла, ремоделированием энергетического обмена и контролируется сигнальной системой инсулиноподобного фактора роста. Митохондрии, выделенные из эмбрионов, остановленных в диапаузе II, не готовы производить АТФ, а, скорее, перемещают углерод и электроны через цикл Кребса, минимизируя генерацию протон-движущей силы [48]. Диапауза III происходит на заключительной стадии развития, непосредственно перед выклевом [47]. Асинхронность приходилась на начало и конец засушливого сезона.

Все три стадии диапаузы являются обязательными, но могут длиться разное время в зависимости от внешних раздражителей. У *Austrofundulus limnaeus* процесс входа в диапаузу и выхода из неё связан с температурой окружающей среды, а также с определёнными сигналами, передаваемыми от материнского организма [20, 49]. Например, вероятность того, что эмбрион войдёт в длительную диапаузу, зависит от возраста самки и количества яиц, которые она уже произвела [49]. При разведении *N. guentheri* и *N. rachovii* в лабораторных условиях мы выявили сходный паттерн.

Обнаружено, что процесс эмбрионального развития, в частности прохождение диапаузы, различается у рыб, живущих в дикой природе и рыб, содержащихся в условиях лаборатории. Основным отличительным признаком является сокращение срока диапаузы, например, у *N. furzeri* диапауза III в стандартных условиях инкубации практически не наблюдается. Скорее всего, она становится крайне непродолжительной. Это может отражаться на результатах научных экспериментов и вызывает необходимость детального изучения различий.

КОГНИТИВНО-ПОВЕДЕНЧЕСКАЯ СФЕРА И ОСОБЕННОСТИ СОЦИАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ

В отличие от *D. rerio*, традиционного модельного организма, представители рода *Nothobranchius* не ведут стайный образ жизни и являются хищниками. Всемирная организация здравоохранения даже рассматривала нотобранхиусов в качестве биологического средства борьбы с малярией в Африке, предполагая, что они способ-

ны массово истреблять личинки комаров [50]. По-видимому, именно хищничество позволило нотобранхиусам развить в процессе эволюции когнитивные способности и опосредовало появление иных поведенческих паттернов по сравнению с другими, нехищными, видами.

Можно ли говорить о том, что рыба обладает характером? Существует крайне интересная ниша исследований, направленная на изучение стабильных индивидуальных различий в поведении. Был введён термин «характер животного» (animal personality) [51], и вариации поведения были подтверждены для некоторых видов рыб [52, 53].

Экспериментально доказано, что особи вида *N. furzeri* обладают индивидуальными поведенческими вариациями. Для того чтобы доказать эту особенность, были проведены тесты на склонность к исследовательскому поведе-

нию рыб, на оценку смелости и склонности к риску. Результаты данного исследования подтвердили различия в последовательных индивидуальных поведенческих реакциях, а все поведенческие показатели, отражающие двигательную активность и склонность к риску, оказались повторяемыми [54].

Индивидуальные различия поведения между особями наблюдались и в наших исследованиях. Для тестирования экспериментального препарата рыбы вида *Nothobranchius foershi* помещались в пробирки объёмом 50 мл на 1 час 4 раза в день. После нахождения в пробирке рыбы демонстрировали два разных паттерна поведения. Одни после освобождения стремительно уплывали и прятались у дальней стенки аквариума, в то время как другие подплывали к передней стенке и демонстрировали поведенческие признаки агрессии.

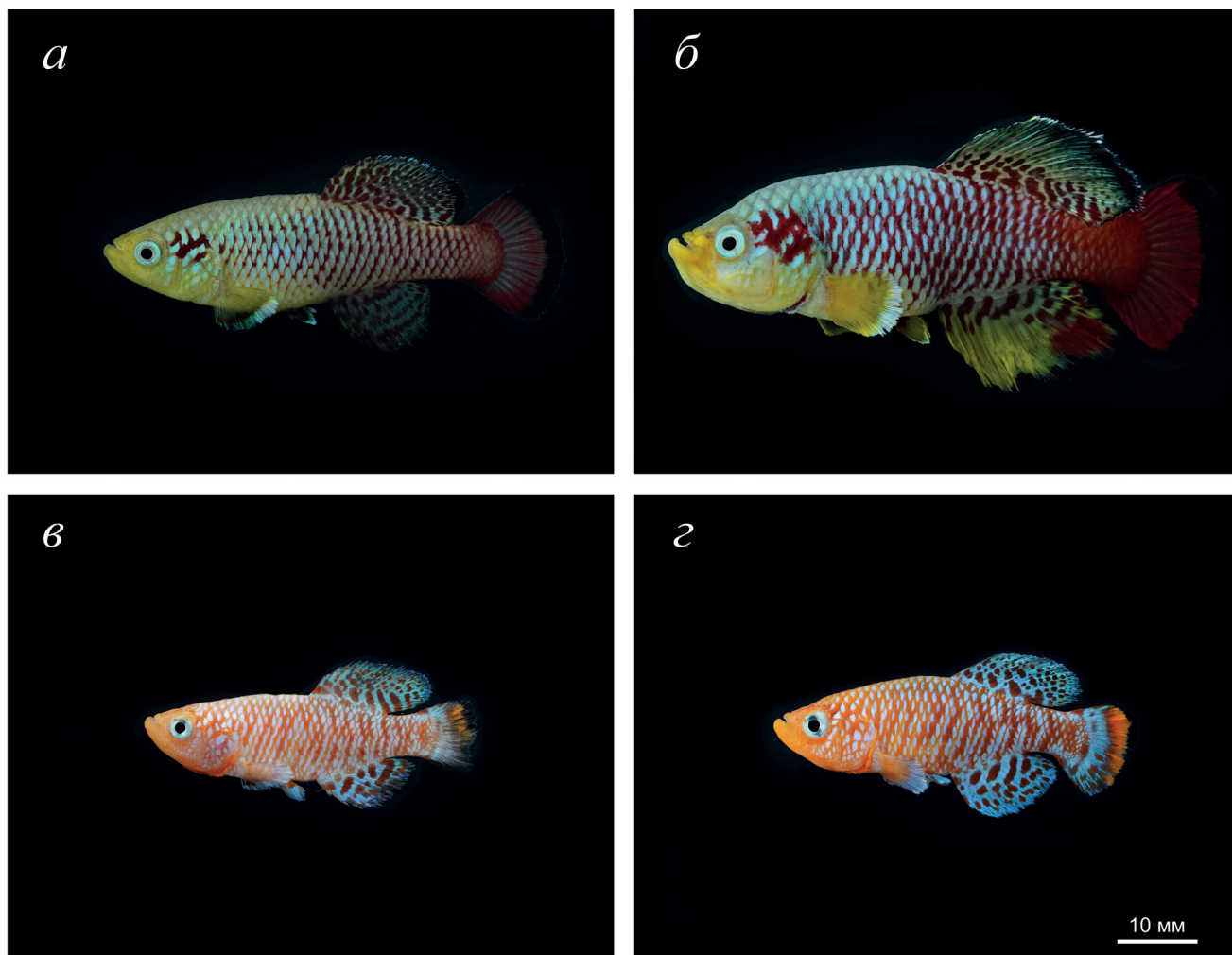


Рис. 1. Социальная стратификация в искусственно сформированных группах самцов *Nothobranchius guentheri* (а и б) и *Nothobranchius rachovii* (в и г) при избыточном кормлении личинками *Chironomus*. Уровень в иерархической лестнице находит отражение в размере особи, особенностях её окраски, а также поведенческом паттерне. Доминантные самцы крупнее и ярче (б и г), в то время как низкоранговые особи имеют меньшие размеры, бледную окраску и менее выраженный рисунок на поверхности тела (а и в)

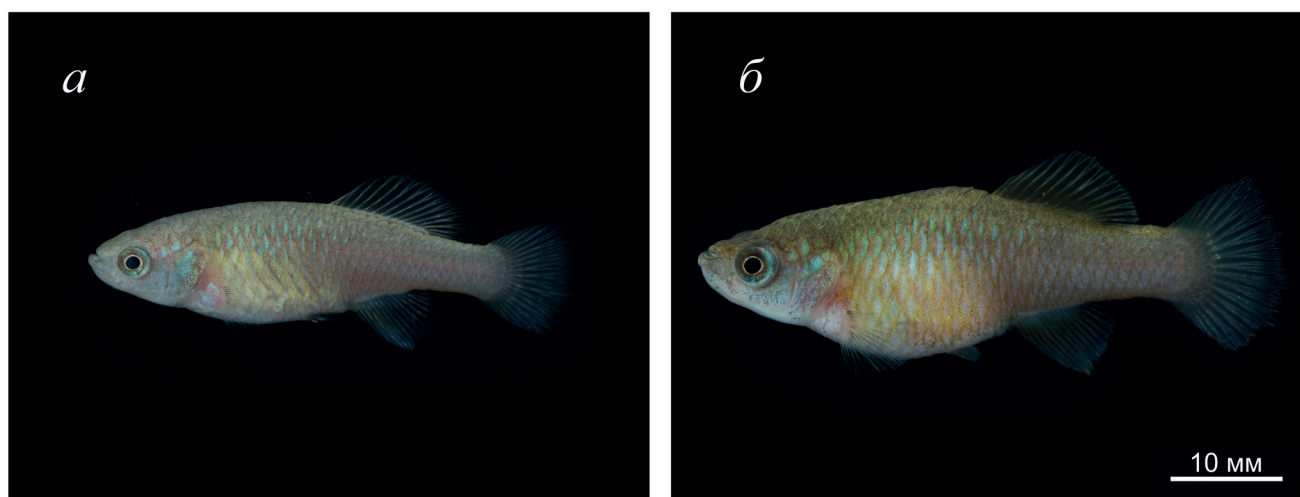


Рис. 2. В условиях аквакультуры среди нормальных самок *N. guentheri* средних размеров (а) отдельные особи маскулинизируются (б). Они могут значительно отличаться по размеру, иметь более тёмную окраску и проявлять высокий уровень агрессии по отношению к самкам и самцам своего вида

Как устроена иерархическая система у нотобранхиусов, и как это учитывать при планировании экспериментов? Широко известно, что животные одного вида в большинстве случаев формируют иерархическую социальную структуру при попадании в условия с ограниченными ресурсами [55]. Выявляются доминантные, иногда субдоминантные, и низкоранговые особи [56].

На начальных этапах работы с нотобранхиусами (*N. guentheri*, *N. rachovii* и *Nothobranchius flammicomantis*) нами было обнаружено, что при групповом содержании в лабораторных условиях рыбы активно взаимодействуют друг с другом. Характер взаимодействия однозначно говорил о невозможности проведения любых длительных экспериментов даже в том случае, если группа особей формировалась ещё в раннем возрасте и в аквариум не добавлялись новые особи.

При недостаточно обильном кормлении (3–4 раза в день до насыщения науплиусами *Artemia salina*) нотобранхиусы становятся более агрессивными, взаимодействие особей в популяции часто приводит к увечьям, а иногда даже к летальным исходам. Интересно, что такие особенности социального взаимодействия наблюдаются даже у одного из самых неагрессивных видов, *N. rachovii*. При избыточном кормлении (4–5 раз в день до насыщения личинками комаров семейства Chironomidae) рыбы реже проявляют агрессию, направленную на смерть противника, однако самцы демонстрируют по отношению к представителям своего пола поведенческий паттерн, характерный для процесса спаривания. Помимо этого, можно наблюдать диверсификацию как по

морфологическим признакам, так и по поведенческим паттернам (рис. 1).

При лабораторном разведении самок *N. guentheri* как в изоляции от самцов, так и при совместном содержании также наблюдается диверсификация особей по морфологическим признакам. Однако если у самцов формируется плавный переход между самыми яркими крупными и бледными мелкими особями, то для самок наблюдается немного другая ситуация. Самым ярким событием становится появление крупных агрессивных самок с более тёмной окраской, однако они никогда не приобретают фенотип и функционал самца (рис. 2).

Причины, которые определяют роль какой-то конкретной особи в социальной структуре, на данный момент неизвестны. Иерархическая структура распространена среди рыб [57], однако она ещё недостаточно изучена у нотобранхиусов и представляет не только фундаментальный научный интерес, но и важна для корректного составления выборки при проведении различных видов экспериментов. Например, это может быть важным при тестировании потенциальных геропротекторов и проведении сопутствующих поведенческих тестов. Также можно рассмотреть возможность использования представителей рода *Nothobranchius* в качестве моделей для изучения молекулярно-генетических основ различных поведенческих паттернов.

В наших экспериментах были обнаружены некоторые молекулярные механизмы, потенциально связанные с различиями в поведении нотобранхиусов и их иерархическим положением. Был проведён анализ транскриптома самцов *N. guentheri* разного социального

ранга — доминантных и наиболее низкоранговых. У доминантных самцов обнаружено значительное повышение уровня экспрессии транспозонов, ассоциированное преимущественно с экспрессией белок-кодирующих генов, вовлечённых в активность клеток нервной системы. Вероятно, высокая социальная позиция служит стрессовым стимулом, из-за которого и активируется экспрессия транспозонов.

Учитывая обнаруженные изменения на уровне транскриптома мозга в зависимости от иерархического статуса, можно предполагать наличие искажений при тестировании геропротекторов или при проведении любых других исследований. Полученные результаты необходимо учитывать при планировании экспериментов и составлении групп сравнения.

Как социальный стресс может влиять на жизнедеятельность организма и результаты трансляционных исследований? Нотобранхиусы отличаются высокой чувствительностью к социальному стрессу. В наших исследованиях наиболее яркой демонстрацией этой особен-

ности можно считать стремительную потерю способности регулировать положение своего тела в толще воды. Чаще всего у самцов это происходит при буллинге со стороны других самцов в аквариуме, у самок — при формировании нерестовой группы, когда одна из них не получает внимание самца. Такие особи преимущественно передвигаются по дну, из-за чего таких рыб называют «ползунами» (в англоязычной литературе «belly-sliders»), и социальный стресс — только одна из причин возникновения подобной патологии [58, 59]. Рис. 3 иллюстрирует значение социального стресса, его механизм и психогенный потенциал влияния на физиологическое состояние организма.

Полученные результаты могут частично объяснять широко известную проблему, связанную со сложностями в трансляции результатов экспериментов с животными на людей: модельные организмы при проведении эксперимента содержатся в практически идеальных условиях, в то время как люди постоянно

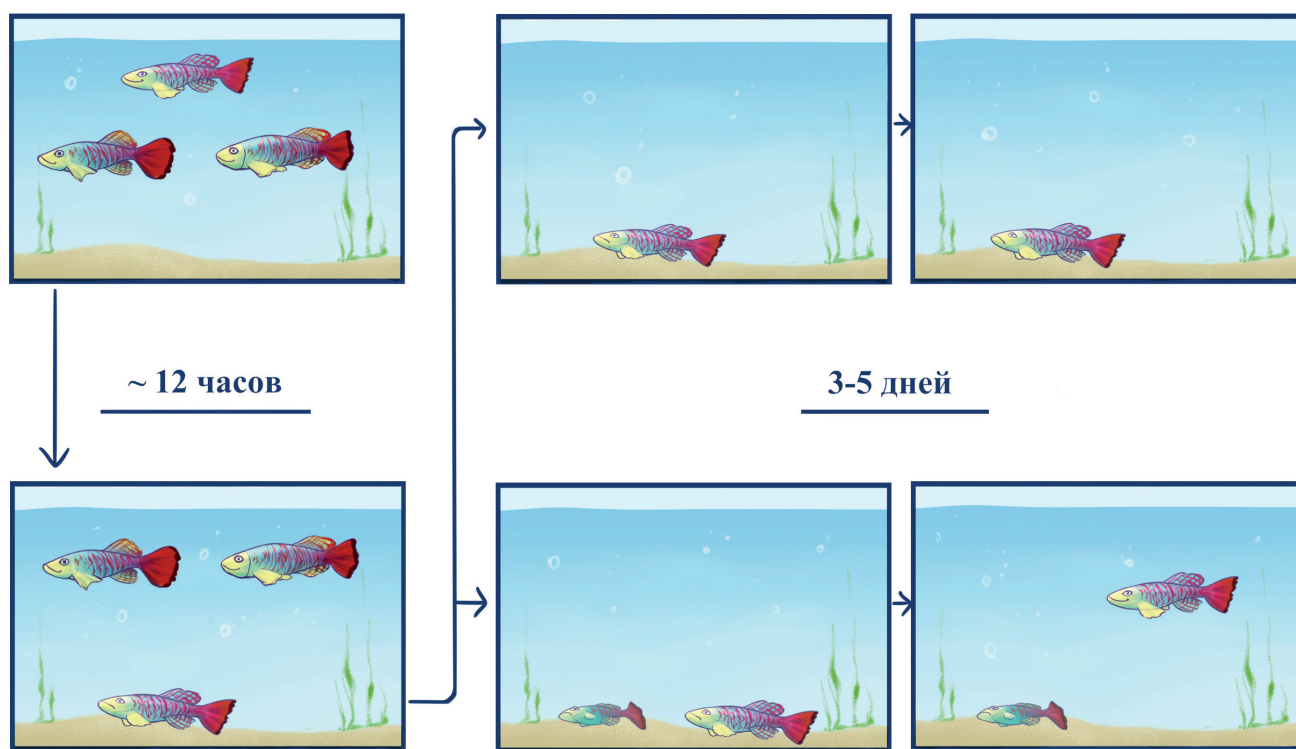


Рис. 3. Социальный стресс у самцов *N. guentheri*. Потенциал влияния буллинга на обоих участников взаимодействия. Если поместить в аквариум на ночь несколько самцов, например, троих, и предоставить им корм в избытке, то с большей долей вероятности один из них к утру окажется ползуном. Начало эксперимента в дневное время, скорее всего, приведёт к гибели одного из самцов вследствие агрессивного поведения и атак со стороны остальных. Став ползуном, особь старается найти безопасное место в аквариуме, где её не видно. Если наутро отсадить такую особь в отдельный аквариум, остановив стрессовое воздействие, идущее от соседей, то есть вероятность, что в течение 3–5 дней рыба вернётся к исходному состоянию и перестанет быть ползуном. Если к такому ползуну посадить более мелкого ползуна (самца или самку в ещё более худшем состоянии), то формируется новая иерархия. Подопытный самец сам занимает главенствующее положение и нападает на маленького. В результате эксперимента оказалось, что если имеется более низкоранговый самец, которого можно подвергать буллингу, существенно возрастает вероятность возвращения к нормальному состоянию контроля положения тела в толще воды

подвергаются социальному стрессу во время приёма препаратов. Стресс связан как с осознанием своей болезни и сложностями в коммуникации, которые происходят на этом фоне, так и с обычными рутинными ситуациями, которые почти каждый день случаются с человеком. Наша гипотеза заключается в том, что для получения более релевантных результатов клинических испытаний необходимо дополнять их теми факторами, которые окружают человека в реальной жизни. Подверженность нотобранхиусов социальному стрессу предоставляет исследователям такую возможность.

СТАРЕНИЕ

Подавляющее большинство животных имеют сходные паттерны старения, хотя известны и исключения. Различия обычно затрагивают среднюю продолжительность жизни и динамику проявления возраст-ассоциированных признаков/заболеваний – скорость старения.

Изучать механизмы старения полностью на человеке невозможно, особенно если речь идёт о тестировании потенциальных лекарственных препаратов. Необходимы модельные животные. При их выборе приоритетными являются такие факторы, как эволюционная близость, схожесть процессов старения с человеком и наличие характерных признаков, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров процесса старения. Также желательна небольшая масса тела животного и минимальная продолжительность жизни. Последние два пункта позволяют не только быстрее получить результаты работы, но и существенно сократить временные и финансовые затраты на тестируемый препарат. Прежде чем принять решение о корректности использования нотобранхиусов в качестве модельного организма, важно подтвердить, что выбранная модель является адекватной для экстраполяции результатов исследования.

При относительно коротком жизненном цикле представители рода *Nothobranchius* проходят типичные для млекопитающих, включая

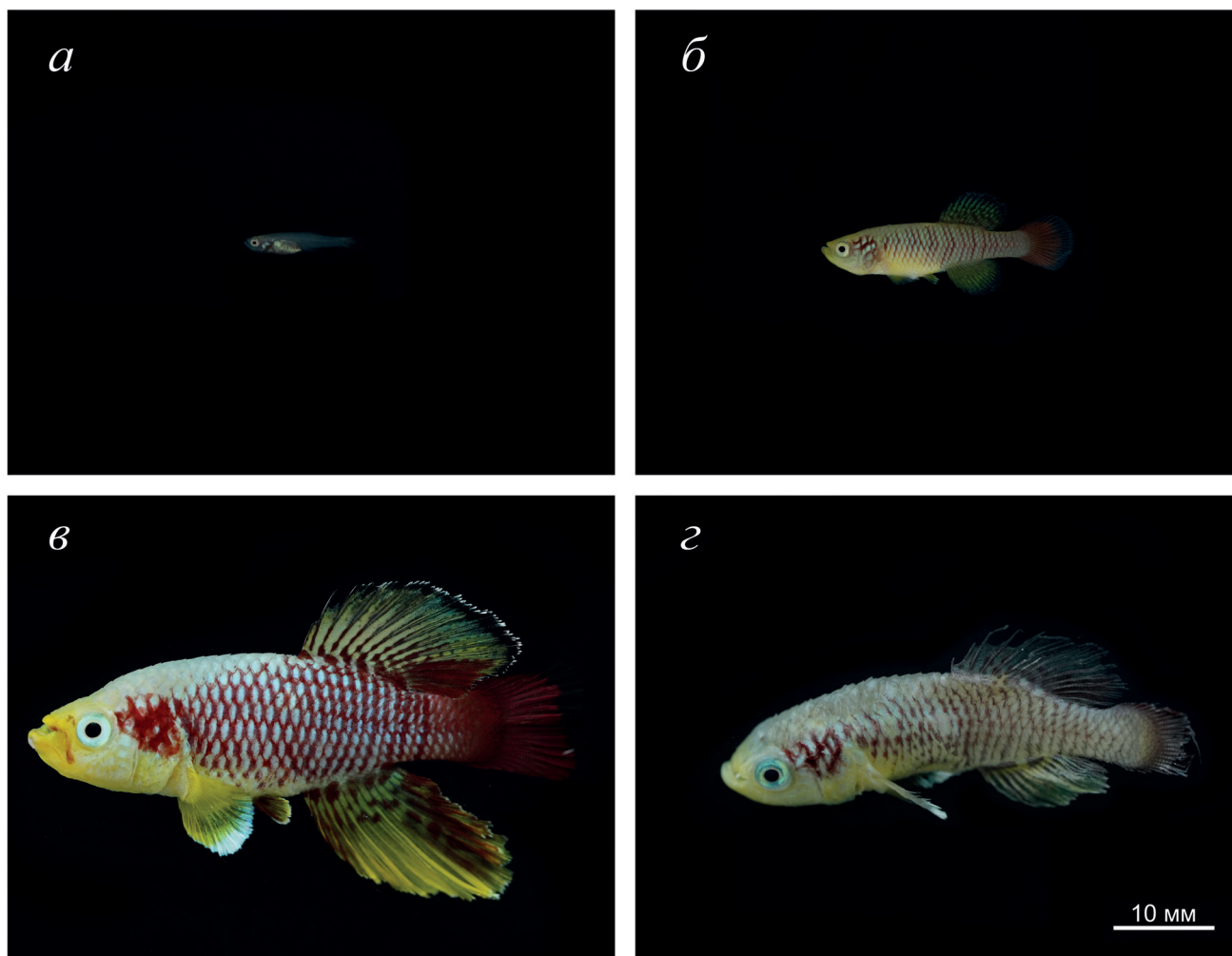


Рис. 4. Самцы *N. guentheri* разных возрастов: 7 дней (а); 2 недели (б); 3 месяца (в) и 18 месяцев (г)

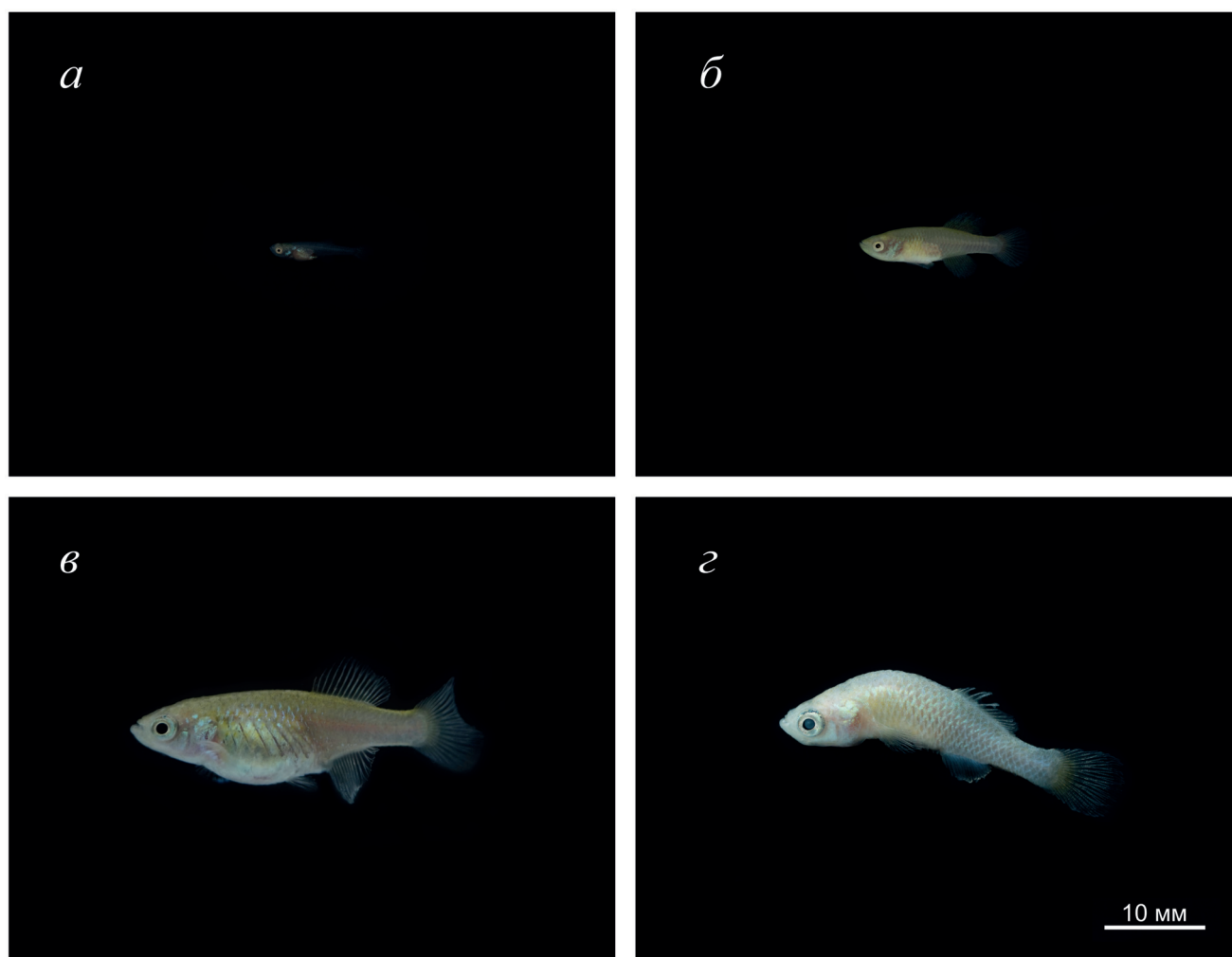


Рис. 5. Самки *N. guentheri* разных возрастов: 7 дней (а); 2 недели (б); 3 месяца (в) и 18 месяцев (г)

человека, этапы старения. Это выражается в нескольких проявлениях, в том числе постепенности развития признаков: нотобранхиусы теряют насыщенность и чёткость окраски, теряют мышечную массу и вес тела, накапливают мутации, демонстрируют снижение локомоторной активности. С возрастом у нотобранхиусов, как и у человека, синхронность календарного и биологического возраста всё больше нарушается. То есть в одном календарном возрасте особи могут существенно отличаться друг от друга по количеству и специфическому набору старческих признаков.

Какие признаки стоит рассматривать при разработке методов коррекции проявлений старения на нотобранхиусах? Являясь модельными организмами в геронтологии, нотобранхиусы имеют ряд морфологических признаков, которые удобно использовать в качестве маркеров старения. Статус этих маркеров и его изменения необходимо отслеживать в течение эксперимента. Оценка маркеров старения позволяет фиксировать динамику возраст-ассоциирован-

ных патологий и оценивать биологический возраст при тестировании различных интервенций. Также внешние признаки старения необходимо учитывать при методологических подходах, например, при составлении выборки для получения статистически значимых результатов, особенно если тест проводится на старых рыбах, так как к этому времени особи в группе могут значительно разойтись по биологическому возрасту.

Самцы теряют насыщенность окраски тела, узор на анальном и спинном плавнике бледнеет и теряет чёткость. Некоторые исследователи видят в этих процессах у нотобранхиусов параллель с млекопитающими, которые с возрастом постепенно теряют пигмент волос и кожи [60]. На рис. 4 представлен самец *N. guentheri* на четырёх стадиях развития — до начала окрашивания, в процессе приобретения окраски, в зрелости и в старости.

У старых нотобранхиусов заметно нарушается целостность плавников, причём даже в условиях индивидуального содержания, предотвращающего риск повреждения особями друг

друга. Значительные нарушения претерпевает опорно-двигательная система — искривлением позвоночника страдают как самцы, так и самки. У некоторых особей образуется «горб», также наблюдается истощение мышц, потеря веса. Старым особям свойственны нарушения зрительной системы. Довольно часто, особенно у самок, образуются мутно-белые пятна, которые могут расти и полностью «застилать» роговицу глаза подобно катаракте (рис. 5). У самцов чаще отмечается необратимое постепенное уменьшение зрачка до состояния едва заметной точки.

С возрастом нотобранхиусы теряют способность к регенерации тканей, например, 8-недельные *N. furzeri* (штамм MZM-0703) способны почти полностью регенерировать хвостовой плавник в течение 4 недель, а в возрасте 54 недель — уже только 46% от первоначального размера плавника [61]. Подобно большинству животных, рыбы рода *Nothobranchius* постепенно утрачивают репродуктивную способность, которая у *N. furzeri* начинает снижаться уже с 8–10 недель жизни [58].

Как и у человека, характерной чертой старения нотобранхиусов является развитие опухолевых новообразований. Опухоли, изученные в разных штаммах *N. furzeri*, имели нарушения в таких белках, как Bcl-2, цитокератин-8, карциноэмбриональный антиген и p53. Наиболее подверженным новообразованиям органом у нотобранхиусов является печень [62]. Вероятность возникновения неоплазий увеличивается по мере старения рыбы [63], что наблюдается и у людей [64]. Примечательно, что заболеваемость раком печени у самцов *N. furzeri* выше, чем у самок [62], это также повторяет статистику заболеваемости раком печени у людей [41, 65].

Перечисленные признаки старения нотобранхиусов соответствуют некоторым из возрастных изменений, происходящих у человека, мышей и других позвоночных [66]. Таким образом, в арсенале исследователей имеется набор биомаркеров старения представителей рода *Nothobranchius*, позволяющий изучать механизмы возраст-зависимых патологий различных систем органов, оценивать геронепротекторные эффекты тестируемых интервенций и отслеживать динамику возрастных изменений неинвазивным способом, получая релевантные результаты экспериментов на позвоночном животном за короткий срок.

Какие молекулярно-генетические нарушения нотобранхиусов наиболее перспективно изучать в аспекте старения? В 2015 году был отсекувенирован и собран *de novo* геном *N. furzeri*, проведена аннотация [67]. Оказалось, что некоторые гены были связаны с продолжительностью жизни

и старением (*mtor*, *4ebp*, *s6k*, *insr*, *foxo3a/b*, *ampk* и *polg*), аналогичная ассоциация была продемонстрирована и для нескольких генов, кодируемых митохондриальным геномом [43]. Генетические локусы, ассоциированные с продолжительностью жизни, расположены у *N. furzeri* на половой хромосоме и включают: 31 белок-кодирующий ген, 6 генов длинных некодирующих РНК и 2 гена малых ядерных РНК. Можно отметить ген *GRN*, кодирующий белок програнулин, который вовлечён в нейродегенеративные заболевания и регуляцию продолжительности жизни у мышей, *GSTT1A*, ген глутатион-S-трансфераз (окислительно-восстановительных ферментов гомеостаза, которые регулируют продолжительность жизни у червей и мышей), а также гены *STAT3* и *STAT5.1 (2of6)*, кодирующие два фактора транскрипции, участвующие в регуляции воспалительных процессов [43, 67].

Истощение теломер — типичный процесс старения клеток людей и многих других организмов, в том числе модельных [68–71], но он не является однозначным биомаркером старения нотобранхиусов. Было продемонстрировано, что у долгоживущего штамма *N. furzeri* теломеры истощаются с возрастом, а у штамма GRZ они почти не укорачиваются, возможно, из-за недолгой продолжительности жизни этого штамма [72]. Однако линия *N. furzeri* с мутацией теломеразы продемонстрировала преждевременное бесплодие, резкое снижение количества красных и белых кровяных клеток, аномалии в эпителиальных клетках кишечника, включая снижение полярности и увеличение соотношения размеров ядер и цитоплазмы [73]. По-видимому, теломераза играет ключевую роль в поддержании гомеостаза организма у *N. furzeri*, но не влияет на продолжительность жизни штамма GRZ.

У многих видов, включая человека, со старением коррелирует нестабильность митохондриальной ДНК (мтДНК) [70, 74–77]. Причина в том, что мтДНК не имеет гистонов, поэтому она в большей степени, чем ядерная ДНК, подвержена мутагенезу [78]. Также наблюдается снижение копийности мтДНК [74, 79], что приводит к раннему проявлению возраст-ассоциированных заболеваний [80]. Данный процесс коррелирует с возрастом во многих тканях *N. furzeri*, включая мозг, печень и мышцы [81].

Возрастное понижение активности протеасом, отвечающих за контроль качества белка, начинающееся после полового созревания, в итоге приводит к нарушению стехиометрии белков при старении. Прогрессирующая утрата нормального протеостаза считается одним

из основных факторов нейродегенерации как у *N. furzeri*, так и у человека [82].

Для каких нозологических категорий использование нотобранхиусов как модели возраст-зависимых заболеваний наиболее оправдано, обосновано и перспективно? При использовании рыб рода *Nothobranchius* в качестве модели старения человека наибольшее внимание уделяется процессам нейродегенерации. Например, было показано [4], что в глиальных клетках головного мозга *N. furzeri* с возрастом повышается регуляция глиального фибриллярного кислого белка GFAP, как это происходит при старении у млекопитающих. Из-за этого с возрастом накапливаются богатые липидами пигментные гранулы – липофусцин, что снижает поддержку и защиту нейронов, обеспечиваемых глией. Вместе с этим дегенерируют сами нейроны – в них накапливаются молекулы бета-амилоида и агрегируют, образуя бляшки, наблюдаемые у людей с болезнью Альцгеймера, самой значимой и известной нейродегенерацией у человека.

Также у состарившихся *N. furzeri* наблюдается возраст-ассоциированная нейродегенерация норадренергических и дофаминергических нейронов, что напоминает предсимптомную стадию болезни Паркинсона [83]. Данные паттерны старения нервной системы свидетельствуют о том, что естественные генетические вариации способны влиять на восприимчивость дофаминергических нейронов *N. furzeri* и могут быть использованы для выявления модифицирующих факторов возрастной нейродегенерации.

Нарушение функций зрительной системы является значимым признаком старения и проявлением многих нейродегенеративных заболеваний. Более того, были идентифицированы специфические маркеры нейродегенеративных процессов в сетчатке старых *N. furzeri* [84].

Рыбы рода *Nothobranchius* используются как модель остеопороза, ассоциированного со старением. Остеопороз – частое возрастное заболевание опорно-двигательной системы человека. С возрастом в цитологическом профиле и минеральном составе костей *N. furzeri* наблюдаются не только возрастные, но и половые различия, которые могут быть приняты во внимание при изучении гендерных аспектов возрастных заболеваний опорно-двигательного аппарата [4].

Таким образом, представители рода *Nothobranchius* – превосходные модели для тестирования не только потенциальных геропротекторов [17, 85], но возраст-ассоциированных патологий человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нотобранхиусы таят в себе ещё немало загадок, и в обзоре мы рассмотрели лишь наиболее актуальные вопросы, которые можно сформулировать на существующем уровне развития техники. С усовершенствованием методических подходов возникнут и новые, не менее интересные вопросы. Что же мешает двигаться вперед, и какие методические сложности испытывают исследователи при работе с нотобранхиусами?

Первый блок методических проблем затрагивает особенности содержания животных и стандартизацию всех манипуляций с ними. Специалистам хорошо известно, что далеко не всегда даже опубликованные научные результаты уважаемых коллективов удаётся воспроизвести в других лабораториях. Важно максимально внимательно относиться к унификации процессов, причём в тесном сотрудничестве с коллегами. Известно, например, что повышение температуры воды изменяет среднюю продолжительность жизни. Однако такие попытки могут иметь и негативные последствия. Создание протоколов, позволяющих избежать использование не стандартизируемых материалов, например торфа, привело к тому, что у лабораторных животных *N. furzeri* изменилось соотношение диапауз в процессе эмбриогенеза – они практически не входили в диапаузу III.

Вторая группа вопросов – создание возможности проводить малоинвазивные тесты. Это могло бы обеспечить сбор биологического материала для исследований, не только пост-мортально или подвергая организм сильному стрессовому воздействию, и, таким образом, получать данные от одного и того же животного в динамике. В настоящее время попытки использовать, например, фрагменты плавников, приводят к тому, что часть животных необратимо становятся ползунами. Причём с возрастом доля таких случаев увеличивается, а плавники регенерируют всё хуже.

И, наконец, одна из самых неразработанных в методическом плане областей – это исследования поведения нотобранхиусов. Когнитивно-поведенческие тесты требуют от экспериментатора одновременно творческого подхода, наблюдательности, педантичности и огромного временного ресурса. Однако эта область является крайне привлекательной, потому что в ней есть ещё масса вопросов, на которые можно ответить, не дожидаясь появления новых методов и приборов. Вот лишь некоторые из них. В каких направлениях необходимо оптимизировать когнитивно-поведенческие тесты, в том числе для разных видов и в разном возрасте?

Что может быть положительным подкреплением при проведении когнитивно-поведенческих тестов? То есть как построить эксперимент, не используя лишь отрицательное подкрепление, что, несомненно, вызывает у особи стресс? Как при проведении экспериментов решить проблему влияния разного иерархического статуса тестируемых особей? Или же, наоборот, как построить эксперимент, чтобы учитывать этот статус?

Данный обзор, подчёркивающий потенциал модельных рыб рода *Nothobranchius*, призван стимулировать применение данной модели в борьбе за активное долголетие.

Вклад авторов. А.В. Кудрявцева, Е.В. Булавкина – концепция и руководство работой;

Е.В. Булавкина., М.А. Гончарова., А.И. Шувалова – подготовка иллюстраций. Все авторы участвовали в анализе литературы и написании обзора.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, Соглашение № 075-15-2019-1660.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам учреждения, в котором проводились исследования, и утверждённым правовым актам РФ и международных организаций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cellerino, A., Valenzano, D. R., and Reichard, M. (2016) From the bush to the bench: the annual *Nothobranchius* fishes as a new model system in biology, *Biol. Rev.*, **91**, 511–533, doi: 10.1111/brv.12183.
2. Hu, C.-K., and Brunet, A. (2018) The African turquoise killifish: a research organism to study vertebrate aging and diapause, *Aging Cell*, **17**, e12757, doi: 10.1111/ace1.12757.
3. Poeschla, M., and Valenzano, D. R. (2020) The turquoise killifish: a genetically tractable model for the study of aging, *J. Exp. Biol.*, **223**, jeb209296, doi: 10.1242/jeb.209296.
4. Butylina, M., Föger-Samwald, U., Gamsjaeger, S., Wahl-Figlash, K., Kothmayer, M., Paschalis, E. P., Pusch, O., and Pietschmann, P. (2022) *Nothobranchius furzeri*, the turquoise killifish: a model of age-related osteoporosis? *Gerontology*, 1–13, doi: 10.1159/000524300.
5. Dance, A. (2016) Live fast, die young, *Nature*, **535**, 453–455, doi: 10.1038/535453a.
6. Valdesalici, S., and Cellerino, A. (2003) Extremely short lifespan in the annual fish *Nothobranchius furzeri*, *Proc. Biol. Sci.*, **270**, doi: 10.1098/rsbl.2003.0048.
7. Dong, Y., Cui, P., Li, Z., and Zhang, S. (2017) Aging asymmetry: systematic survey of changes in age-related biomarkers in the annual fish *Nothobranchius guentheri*, *Fish Physiol. Biochem.*, **43**, 309–319, doi: 10.1007/s10695-016-0288-1.
8. Li, C., Song, L., Zhou, Y., Yuan, J., and Zhang, S. (2022) Identification of Isthmin1 in the small annual fish, *Nothobranchius guentheri*, as a novel biomarker of aging and its potential rejuvenation activity, *Biogerontology*, **23**, 99–114, doi: 10.1007/s10522-021-09948-5.
9. Zhikrevetskaya, S., Peregudova, D., Danilov, A., Plyusnina, E., Krasnov, G., Dmitriev, A., Kudryavtseva, A., Shaposhnikov, M., and Moskalev, A. (2015) Effect of low doses (5–40 cGy) of gamma-irradiation on lifespan and stress-related genes expression profile in *Drosophila melanogaster*, *PLoS One*, **10**, e0133840, doi: 10.1371/journal.pone.0133840.
10. Proshkina, E. N., Shaposhnikov, M. V., Sadritdinova, A. F., Kudryavtseva, A. V., and Moskalev, A. A. (2015) Basic mechanisms of longevity: A case study of *Drosophila* pro-longevity genes, *Ageing Res. Rev.*, **24**, 218–231, doi: 10.1016/j.arr.2015.08.005.
11. Proshkina, E., Lashmanova, E., Dobrovolskaya, E., Zemskaya, N., Kudryavtseva, A., Shaposhnikov, M., and Moskalev, A. (2016) Geroprotective and radioprotective activity of quercetin, (–)-epicatechin, and ibuprofen in *Drosophila melanogaster*, *Front. Pharmacol.*, **7**, doi: 10.3389/fphar.2016.00505.
12. Moskalev, A., Shaposhnikov, M., Proshkina, E., Belyi, A., Fedintsev, A., Zhikrivetskaya, S., Guvatova, Z., Sadritdinova, A., Snezhkina, A., Krasnov, G., and Kudryavtseva, A. (2016) The influence of pro-longevity gene *Gclc* overexpression on the age-dependent changes in *Drosophila* transcriptome and biological functions, *BMC Genomics*, **17**, 1046, doi: 10.1186/s12864-016-3356-0.
13. Lashmanova, E., Zemskaya, N., Proshkina, E., Kudryavtseva, A., Volosnikova, M., Marusich, E., Leonov, S., Zhavoronkov, A., and Moskalev, A. (2017) The evaluation of geroprotective effects of selected flavonoids in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*, *Front. Pharmacol.*, **8**, 884, doi: 10.3389/fphar.2017.00884.
14. Yuan, R., Tsaih, S. W., Petkova, S. B., Marin de Esvikova, C., Xing, S., Marion, M. A., Bogue, M. A., Mills, K. D., Peters, L. L., Bult, C. J., Rosen, C. J., Sundberg, J. P., Harrison, D. E., Churchill, G. A., and Paigen, B. (2009) Aging in inbred strains of mice:

- study design and interim report on median lifespans and circulating IGF1 levels: median lifespans and IGF1 levels of 31 inbred strains, *Aging Cell*, **8**, 277-287, doi: 10.1111/j.1474-9726.2009.00478.x.
15. Seidel, J., and Valenzano, D. R. (2018) The role of the gut microbiome during host ageing, *F1000Research*, **7**, 1086, doi: 10.12688/f1000research.15121.1.
 16. Smith, P., Willemsen, D., Popkes, M., Metge, F., Gandiwa, E., Reichard, M., and Valenzano, D. R. (2017) Regulation of life span by the gut microbiota in the short-lived African turquoise killifish, *eLife*, **6**, e27014, doi: 10.7554/eLife.27014.
 17. Bakhtogarimov, I. R., Kudryavtseva, A. V., Krasnov, G. S., Gladyshev, N. S., Volodin, V. V., Kudryavtsev, A. A., Bulavkina, E. V., Goncharova, M. A., Ledyeva, V. S., Pastukhov, I. S., Vershinina, Y. S., Starkova, A. M., Snezhkina, A. V., Shuvalova, A. I., Pavlov, V. S., Nikiforov-Nikishin, D. L., Moskalev, A. A., and Guvatova, Z. G. (2022) The effect of meclufenoxate on the transcriptome of aging brain of *Nothobranchius guentheri* annual killifish, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 2491, doi: 10.3390/ijms23052491.
 18. Guvatova, Z. G., Fedorova, M. S., Vershinina, Y. S., Pudova, E. A., Lipatova, A. V., Volodin, V. V., Gladyshev, N. S., Tokarev, A. T., Kornev, A. B., Pavlov, V. S., Bakhtogarimov, I. R., Krysanov, E. Y., Moskalev, A. A., Krasnov, G. S., and Kudryavtseva, A. V. (2021) *De novo* transcriptome profiling of brain tissue from the annual killifish *Nothobranchius guentheri*, *Life*, **11**, 137, doi: 10.3390/life11020137.
 19. Gao, X., Cai, T., Lin, Y., Zhu, R., Hao, W., Guo, S., and Hu, G. (2022) The function of glucose metabolism in embryonic diapause of annual killifish, *Comp. Biochem. Physiol. Part D Genomics Proteomics*, **42**, 100965, doi: 10.1016/j.cbd.2022.100965.
 20. Romney, A. L., and Podrabsky, J. E. (2017) Transcriptomic analysis of maternally provisioned cues for phenotypic plasticity in the annual killifish, *Austrofundulus limnaeus*, *EvoDevo*, **8**, 6, doi: 10.1186/s13227-017-0069-7.
 21. Romney, A. L. T., Davis, E. M., Corona, M. M., Wagner, J. T., and Podrabsky, J. E. (2018) Temperature-dependent vitamin D signaling regulates developmental trajectory associated with diapause in an annual killifish, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 12763-12768, doi: 10.1073/pnas.1804590115.
 22. Van der Merwe, P. W., Cotterill, F. P. D., Kandziora, M., Watters, B. R., Nagy, B., Genade, T., Flügel, T. J., Svendsen, D. S., and Bellstedt, D. U. (2021) Genomic fingerprints of palaeogeographic history: The tempo and mode of rift tectonics across tropical Africa has shaped the diversification of the killifish genus *Nothobranchius* (Teleostei: Cyprinodontiformes), *Mol. Phylogenet. Evol.*, **158**, 106988, doi: 10.1016/j.ympev.2020.106988.
 23. Whitlock, M. C., and Phillips, P. C. (2014) Drift: Introduction, in *eLS*, 1st ed., John Wiley & Sons, Ltd, doi: 10.1002/9780470015902.a0001698.pub2.
 24. Lambert, J. W., Reichard, M., and Pincheira-Donoso, D. (2019) Live fast, diversify non-adaptively: evolutionary diversification of exceptionally short-lived annual killifishes, *BMC Evol. Biol.*, **19**, 10, doi: 10.1186/s12862-019-1344-0.
 25. Costa, W. J. E. M. (2017) Taxonomic revision of the seasonal killifish genus *Nothobranchius* from Zanzibar, East Africa (Cyprinodontoidae: Aplocheilidae), *J. Nat. Hist.*, **51**, 1609-1624, doi: 10.1080/00222933.2017.1330976.
 26. Watters, B. R., Nagy, B., van der Merwe, P. D. W., Cotterill, F. P. D., and Bellstedt, D. U. (2022) *Review of the Nothobranchius taeniopygus species group from central and western Tanzania with descriptions of five new species and redescription of Nothobranchius taeniopygus* (Teleostei: Nothobranchiidae), DE: Verlag Dr. Friedrich Pfeil, 2019. Accessed: Oct. 27, 2022, doi: 10.23788/IEF-1110.
 27. Nagy, B., Watters, B. R., and Raspopova, A. A. (2021) *Nothobranchius nikiforovi*, a new species of seasonal killifish from the lower Matandu drainage in south-eastern coastal Tanzania (Cyprinodontiformes: Nothobranchiidae), *Zootaxa*, **4950**, 103-122, doi: 10.11646/zootaxa.4950.1.5.
 28. Shidlovskiy, K. M., Watters, B. R., and Wildekamp, R. H. (2019) Notes on the annual killifish species *Nothobranchius rachovii* (Cyprinodontiformes; Nothobranchiidae) with the description of two new species, *Zootaxa*, **2724**, 37, doi: 10.11646/zootaxa.2724.1.3.
 29. Nagy, B. (2018) *Nothobranchius ditte*, a new species of annual killifish from the Lake Mweru basin in the Democratic Republic of the Congo (Teleostei: Nothobranchiidae), *Ichthyol. Explor. Freshw.*, **28**, 115-134.
 30. Arai, R. (2011) *Fish Karyotypes*, Tokyo, Springer Japan, doi: 10.1007/978-4-431-53877-6.
 31. Navarro, A., and Barton, N. H. (2003) Chromosomal speciation and molecular divergence – accelerated evolution in rearranged chromosomes, *Science*, **300**, 321-324, doi: 10.1126/science.1080600.
 32. Kirkpatrick, M., and Barton, N. (2006) Chromosome inversions, local adaptation and speciation, *Genetics*, **173**, 419-434, doi: 10.1534/genetics.105.047985.
 33. Noor, M. A. F., Grams, K. L., Bertucci, L. A., and Reiland, J. (2001) Chromosomal inversions and the reproductive isolation of species, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 12084-12088, doi: 10.1073/pnas.221274498.
 34. Rieseberg, L. H. (2001) Chromosomal rearrangements and speciation, *Trends Ecol. Evol.*, **16**, 351-358, doi: 10.1016/S0169-5347(01)02187-5.
 35. Krysanov, E., and Demidova, T. (2018) Extensive karyotype variability of African fish genus *Nothobranchius* (Cyprinodontiformes), *Comp. Cytogenet.*, **12**, 387-402, doi: 10.3897/CompCytogen.v12i3.25092.
 36. Krysanov, E., Demidova, T., and Nagy, B. (2016) Divergent karyotypes of the annual killifish genus *Nothobranchius* (Cyprinodontiformes, Nothobranchiidae),

- Comp. Cytogenet.*, **10**, 439-445, doi: 10.3897/CompCytogen.v10i3.9863.
37. Dorn, A., Musilová, Z., Platzer, M., Reichwald, K., and Cellerino, A. (2014) The strange case of East African annual fishes: aridification correlates with diversification for a savannah aquatic group? *BMC Evol. Biol.*, **14**, 210, doi: 10.1186/s12862-014-0210-3.
 38. Ewulonu, U. K., Haas, R., and Turner, B. J. (1985) A multiple sex chromosome system in the annual killifish, *Nothobranchius guentheri*, *Copeia*, **1985**, 503, doi: 10.2307/1444868.
 39. Kitano, J., and Peichel, C. L. (2012) Turnover of sex chromosomes and speciation in fishes, *Environ. Biol. Fishes*, **94**, 549-558, doi: 10.1007/s10641-011-9853-8.
 40. Costa, W. J. E. M. (2018) Comparative morphology, phylogeny and classification of African seasonal killifishes of the tribe Nothobranchiini (Cyprinodontiformes: Aplocheilidae), *Zool. J. Linn. Soc.*, **184**, 115-135, doi: 10.1093/zoolinnean/zlx102.
 41. Reichwald, K., Petzold, A., Koch, P., Downie, B. R., Hartmann, N., Pietsch, S., Baumgart, M., Chalopin, D., Felder, M., Bens, M., Sahm, A., Szafranski, K., Taudien, S., Groth, M., Arisi, I., Weise, A., Bhatt, S. S., Sharma, V., Kraus, J. M., Schmid, F., Priebe, S., Liehr, T., Görlach, M., Than, M. E., Hiller, M., Kestler, H. A., Volff, J. N., Schartl, M., Cellerino, A., Englert, C., and Platzer, M. (2015) Insights into sex chromosome evolution and aging from the genome of a short-lived fish, *Cell*, **163**, 1527-1538, doi: 10.1016/j.cell.2015.10.071.
 42. Nikiforov-Nikishin, A., Smorodinskaya, S., Kochetkov, N., Nikiforov-Nikishin, D., Danilenko, V., Bugaev, O., Vatlin, A., Abrosimova, N., Antipov, S., Kudryavtsev, A., and Klimov, V. (2022) Effects of three feed additives on the culturable microbiota composition and histology of the anterior and posterior intestines of Zebrafish (*Danio rerio*), *Animals*, **12**, 2424, doi: 10.3390/ani12182424.
 43. Cui, R., Willemsen, D., and Valenzano, D. R. (2020) *Nothobranchius furzeri* (African Turquoise Killifish), *Trends Genet.*, **36**, 540-541, doi: 10.1016/j.tig.2020.01.012.
 44. Terzibasi Tozzini, E., and Cellerino, A. (2020) *Nothobranchius* annual killifishes, *EvoDevo*, **11**, 25, doi: 10.1186/s13227-020-00170-x.
 45. Sahm, A., Platzer, M., and Cellerino, A. (2016) Outgroups and positive selection: the *Nothobranchius furzeri* case, *Trends Genet.*, **32**, 523-525, doi: 10.1016/j.tig.2016.06.002.
 46. Mustafin, R. N., and Khusnutdinova, E. K. (2019) The role of transposable elements in the ecological morphogenesis under the influence of stress, *Vavilov J. Genet. Breed.*, **23**, 380-389, doi: 10.18699/VJ19.506.
 47. Polačik, M., Vrtílek, M., Reichard, M., Žák, J., Blažek, R., and Podrabsky, J. (2021) Embryo ecology: Developmental synchrony and asynchrony in the embryonic development of wild annual fish populations, *Ecol. Evol.*, **11**, 4945-4956, doi: 10.1002/ece3.7402.
 48. Duerr, J. M., and Podrabsky, J. E. (2010) Mitochondrial physiology of diapausing and developing embryos of the annual killifish *Austrofundulus limnaeus*: implications for extreme anoxia tolerance, *J. Comp. Physiol. B*, **180**, 991-1003, doi: 10.1007/s00360-010-0478-6.
 49. Podrabsky, J. E., Garrett, I. D. F., and Kohl, Z. F. (2010) Alternative developmental pathways associated with diapause regulated by temperature and maternal influences in embryos of the annual killifish *Austrofundulus limnaeus*, *J. Exp. Biol.*, **213**, 3280-3288, doi: 10.1242/jeb.045906.
 50. Matias, J. R., and Adrias, A. Q. (2010) The use of annual killifish in the biocontrol of the aquatic stages of mosquitoes in temporary bodies of fresh water; a potential new tool in vector control, *Parasit. Vectors*, **3**, 46, doi: 10.1186/1756-3305-3-46.
 51. Briffa, M., and Weiss, A. (2010) Animal personality, *Curr. Biol.*, **20**, R912-R914, doi: 10.1016/j.cub.2010.09.019.
 52. Biro, P. A., Adriaenssens, B., and Sampson, P. (2014) Individual and sex-specific differences in intrinsic growth rate covary with consistent individual differences in behaviour, *J. Anim. Ecol.*, **83**, 1186-1195, doi: 10.1111/1365-2656.12210.
 53. Budaev, S., and Brown, C. (2011) Personality Traits and Behaviour, in *Fish Cognition and Behavior* (Brown, C., Laland, K., and Krause, J., eds) 1st Edn., Wiley, pp. 135-165, doi: 10.1002/9781444342536.ch7.
 54. Thoré, E. S. J., Steenaerts, L., Philippe, C., Grégoir, A., Brendonck, L., and Pinceel, T. (2018) Individual behavioral variation reflects personality divergence in the upcoming model organism *Nothobranchius furzeri*, *Ecol. Evol.*, **8**, 8448-8457, doi: 10.1002/ece3.4356.
 55. Jolles, J. W., King, A. J., and Killen, S. S. (2020) The role of individual heterogeneity in collective animal behaviour, *Trends Ecol. Evol.*, **35**, 278-291, doi: 10.1016/j.tree.2019.11.001.
 56. Nikiforov-Nikishin, D. L., Kochetkov, N. I., Mikodina, E. V., Nikiforov-Nikishin, A. L., Simakov, Y. G., Golovacheva, N. A., Gorbunov, A. V., Chebotarev, S. N., Kirichenko, E. Y., Zabiya, I. Y., Pastukhov, I. S., and Bren, A. B. (2022) Evaluation of age-dependent changes in the coloration of male killifish *Nothobranchius guentheri* using new photoprocessing methods, *Biology*, **11**, 205, doi: 10.3390/biology11020205.
 57. McMahon, S. J., Munday, P. L., Wong, M. Y. L., and Donelson, J. M. (2019) Elevated CO₂ and food ration affect growth but not the size-based hierarchy of a reef fish, *Sci. Rep.*, **9**, 19706, doi: 10.1038/s41598-019-56002-z.
 58. Blažek, R., Polačik, M., and Reichard, M. (2013) Rapid growth, early maturation and short generation time in African annual fishes, *EvoDevo*, **4**, 24, doi: 10.1186/2041-9139-4-24.

59. Fonseca, A. P. da, Volcan, M. V., Romano, L. A., and Robaldo, R. B. (2018) Metaplasia in swim bladder epithelium of the endangered annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) results in inadequate swimming and delayed growth, *Neotropical Ichthyol.*, **16**, doi: 10.1590/1982-0224-20170038.
60. Geyfman, M., and Andersen, B. (2010) Clock genes, hair growth and aging, *Aging*, **2**, 122-128, doi: 10.18632/aging.100130.
61. Wendler, S., Hartmann, N., Hoppe, B., and Englert, C. (2015) Age-dependent decline in fin regenerative capacity in the short-lived fish *Nothobranchius furzeri*, *Aging Cell*, **14**, 857-866, doi: 10.1111/ace1.12367.
62. Di Cicco, E., Tozzini, E. T., Rossi, G., and Cellerino, A. (2011) The short-lived annual fish *Nothobranchius furzeri* shows a typical teleost aging process reinforced by high incidence of age-dependent neoplasias, *Exp. Gerontol.*, **46**, 249-256, doi: 10.1016/j.exger.2010.10.011.
63. Pompei, F., Polkanov, M., and Wilson, R. (2001) Age distribution of cancer in mice: the incidence turnover at old age, *Toxicol. Ind. Health*, **17**, 7-16, doi: 10.1191/0748233701th091oa.
64. De Magalhães, J. P. (2013) How ageing processes influence cancer, *Nat. Rev. Cancer*, **13**, 357-365, doi: 10.1038/nrc3497.
65. Nordenstedt, H., White, D. L., and El-Serag, H. B. (2010) The changing pattern of epidemiology in hepatocellular carcinoma, *Dig. Liver Dis.*, **42**, S206-S214, doi: 10.1016/S1590-8658(10)60507-5.
66. Vanhooren, V., and Libert, C. (2013) The mouse as a model organism in aging research: Usefulness, pitfalls and possibilities, *Ageing Res. Rev.*, **12**, 8-21, doi: 10.1016/j.arr.2012.03.010.
67. Valenzano, D. R., Benayoun, B. A., Singh, P. P., Zhang, E., Etter, P. D., Hu, C. K., Clément-Ziza, M., Willemsen, D., Cui, R., Harel, I., Machado, B. E., Yee, M. C., Sharp, S. C., Bustamante, C. D., Beyer, A., Johnson, E. A., and Brunet, A. (2015) The African Turquoise killifish genome provides insights into evolution and genetic architecture of lifespan, *Cell*, **163**, 1539-1554, doi: 10.1016/j.cell.2015.11.008.
68. Benetos, A., Okuda, K., Lajemi, M., Kimura, M., Thomas, F., Skurnick, J., Labat, C., Bean, K., and Aviv, A. (2001) Telomere length as an indicator of biological aging: the gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity, *Hypertension*, **37**, 381-385, doi: 10.1161/01.hyp.37.2.381.
69. Harley, C. B., Futcher, A. B., and Greider, C. W. (1990) Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts, *Nature*, **345**, 458-460, doi: 10.1038/345458a0.
70. López-Otin, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., and Kroemer, G. (2013) The hallmarks of aging, *Cell*, **153**, 1194-1217, doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039.
71. Zhu, L., Hathcock, K. S., Hande, P., Lansdorp, P. M., Seldin, M. F., and Hodes, R. J. (1998) Telomere length regulation in mice is linked to a novel chromosome locus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 8648-8653, doi: 10.1073/pnas.95.15.8648.
72. Hartmann, N., Reichwald, K., Lechel, A., Graf, M., Kirschner, J., Dorn, A., Terzibasi, E., Wellner, J., Platzer, M., Rudolph, K. L., Cellerino, A., and Englert, C. (2009) Telomeres shorten while Tert expression increases during ageing of the short-lived fish *Nothobranchius furzeri*, *Mech. Ageing Dev.*, **130**, 290-296, doi: 10.1016/j.mad.2009.01.003.
73. Harel, I., Benayoun, B. A., Machado, B., Singh, P. P., Hu, C. K., Pech, M. F., Valenzano, D. R., Zhang, E., Sharp, S. C., Artandi, S. E., and Brunet, A. (2015) A platform for rapid exploration of aging and diseases in a naturally short-lived vertebrate, *Cell*, **160**, 1013-1026, doi: 10.1016/j.cell.2015.01.038.
74. Barazzoni, R., Short, K. R., and Nair, K. S. (2000) Effects of aging on mitochondrial DNA copy number and cytochrome c oxidase gene expression in rat skeletal muscle, liver, and heart, *J. Biol. Chem.*, **275**, 3343-3347, doi: 10.1074/jbc.275.5.3343.
75. Tauchi, H., and Sato, T. (1968) Age changes in size and number of mitochondria of human hepatic cells, *J. Gerontol.*, **23**, 454-461, doi: 10.1093/geronj/23.4.454.
76. Yen, T.-C., Chen, Y.-S., King, K.-L., Yeh, S.-H., and Wei, Y.-H. (1989) Liver mitochondrial respiratory functions decline with age, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **165**, 994-1003, doi: 10.1016/0006-291X(89)92701-0.
77. Yui, R., Ohno, Y., and Matsuura, E. T. (2003) Accumulation of deleted mitochondrial DNA in aging *Drosophila melanogaster*, *Genes Genet. Syst.*, **78**, 245-251, doi: 10.1266/ggs.78.245.
78. Tatarenkov, A., and Avise, J. C. (2007) Rapid concerted evolution in animal mitochondrial DNA, *Proc. Biol. Sci.*, **274**, 1795-1798, doi: 10.1098/rspb.2007.0169.
79. Bratic, A., and Larsson, N.-G. (2013) The role of mitochondria in aging, *J. Clin. Invest.*, **123**, 951-957, doi: 10.1172/JCI64125.
80. Vermulst, M., Wanagat, J., Kujoth, G. C., Bielas, J. H., Rabinovitch, P. S., Prolla, T. A., and Loeb, L. A. (2008) DNA deletions and clonal mutations drive premature aging in mitochondrial mutator mice, *Nat. Genet.*, **40**, 392-394, doi: 10.1038/ng.95.
81. Hartmann, N., Reichwald, K., Wittig, I., Dröse, S., Schmeisser, S., Lück, C., Hahn, C., Graf, M., Gausmann, U., Terzibasi, E., Cellerino, A., Ristow, M., Brandt, U., Platzer, M., and Englert, C. (2011) Mitochondrial DNA copy number and function decrease with age in the short-lived fish *Nothobranchius furzeri*: decline of mitochondrial function in aging fish, *Aging Cell*, **10**, 824-831, doi: 10.1111/j.1474-9726.2011.00723.x.
82. Kelmer Sacramento, E., Kirkpatrick, J. M., Mazzetto, M., Baumgart, M., Bartolome, A., Di Sanzo, S., Caterino, C., Sanguanini, M., Papaevgeniou, N., Lefaki, M., Childs, D., Bagnoli, S., Terzibasi Tozzini, E., Di Fraia, D., Romanov, N., Sudmant, P. H., Huber, W.,

- Chondrogianni, N., Vendruscolo, M., Cellierino, A., and Ori, A. (2020) Reduced proteasome activity in the aging brain results in ribosome stoichiometry loss and aggregation, *Mol. Syst. Biol.*, **16**, doi: 10.15252/msb.20209596.
83. Bagnoli, S., Fronte, B., Bibbiani, C., Terzibasi Tozzini, E., and Cellierino, A. (2022) Quantification of noradrenergic-, dopaminergic-, and tectal-neurons during aging in the short-lived killifish *Nothobranchius furzeri*, *Aging Cell*, **21**, doi: 10.1111/ace.13689.
84. Vanhunsel, S., Bergmans, S., Beckers, A., Etienne, I., Van Houcke, J., Seuntjens, E., Arckens, L., De Groef, L., and Moons, L. (2021) The killifish visual system as an *in vivo* model to study brain aging and rejuvenation, *Npj Aging Mech. Dis.*, **7**, 22, doi: 10.1038/s41514-021-00077-4.
85. Valenzano, D. R., Terzibasi, E., Genade, T., Cattaneo, A., Domenici, L., and Cellierino, A. (2006) Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate, *Curr. Biol.*, **16**, 296-300, doi: 10.1016/j.cub.2005.12.038.

MULTIFACETED NOTHOBRANCHIUS

Review

**E. V. Bulavkina^{1,2}, A. A. Kudryavtsev², M. A. Goncharova², M. S. Lantsova²,
A. I. Shuvalova², M. A. Kovalev², and A. V. Kudryavtseva^{1,2*}**

¹ Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991 Moscow, Russia; E-mail: rhizamoeba@mail.ru

² Postgenomic research laboratory, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991 Moscow, Russia

Annual killifish of the genus *Nothobranchius* are seeing a rapid increase in scientific interest over the years. A variety of aspects surrounding egg-laying Cyprinodontiformes is being extensively studied, including their aging. Inhabiting the drying water bodies of Africa rarely allows surviving through more than one rainy season for *Nothobranchius* populations. Therefore, there was no lifespan-related bias in natural selection, which has ultimately led to the reparation system decreasing in efficiency. The aging of *Nothobranchius* is studied both in normal conditions and under the influence of potential geroprotectors, as well as genetic modifications. Most biogerontological studies are conducted using the species *Nothobranchius furzeri* (GRZ isolate), which has a lifespan of 3 to 7 months. However, the list of model species of *Nothobranchius* is considerably wider, and the range of advanced research areas with their participation extends far beyond gerontology. Thus, the review paper summarizes the most interesting and promising topics developing due to fish of the genus *Nothobranchius*. Both classical studies related to lifespan control and rather new ones are touched upon, including mechanisms of diapause, challenges of systematics and phylogeny, evolution of sex determination mechanisms, changes in chromosome count, occurrence of multiple repeated DNA sequences in genome, cognitive and behavioral features and social stratification, as well as methodological difficulties in working with *Nothobranchius*.

Keywords: aging, animal models of aging, *Nothobranchius*, age related diseases, diapause, neurodegeneration, lifespan, longevity, speciation, karyotype, stress