

УДК 615.076.9

DOI: 10.52531/1682-1696-2025-25-2-220-232

Обзорная статья

EDN: ZJCPEQ

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ *DANIO RERIO* В КАЧЕСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕРОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

К.В. Золотарёв, Н.В. Бодоев

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
БИМЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ
ИМ. В.Н. ОРЕХОВИЧА, МОСКВА,
РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

Распространенные в науке подходы для исследования возрастных патологий и старения *in vivo* основаны на модельных объектах из группы грызунов. Одним из основных преимуществ использования рыбы данио-рерио (*Danio rerio*) в качестве биологической модели является ее быстрое относительно грызунов развитие и период воспроизводства. Кроме того, стоимость исследования на модели данио-рерио составляет менее 1/1000 стоимости аналогичного исследования на мышах. Физиологические и патологические процессы в области нервной деятельности, воспалительных реакций, регенерации, неспецифического иммунитета и ряда других областей сходны у данио-рерио и человека в достаточной мере для лабораторного моделирования и испытания потенциальных лекарств. В данном обзоре рассмотрены примеры использования данио-рерио при моделировании ряда возрастзависимых патологий и старения в целом, включая известные способы выявления и инициирования старения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Данио-рерио, биологическая модель, старение, возраст-зависимые заболевания, выявление и инициирование старения

Original article

THE OPPORTUNITIES OF USING *DANIO RERIO* AS A BIOLOGICAL MODEL IN STUDIES OF GEROPROTECTIVE FEATURES OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

K.V. ZOLOTAREV, N.V. BODOEV

INSTITUTE OF BIOMEDICAL CHEMISTRY,
MOSCOW, RUSSIAN FEDERATION

Common approaches in science for *in vivo* studying age-related pathologies and aging are based on model objects from the rodent group. One of the main advantages of using zebrafish (*Danio rerio*) as a biological model is its rapid development and reproduction period compared to rodents. In addition, the cost of research on the zebrafish model is less than 1/1000 of the cost of a similar study on mice. Physiological and pathological processes in the field of neural activity, inflammatory reactions, regeneration, nonspecific immunity and a number of other areas are similar in zebrafish and humans to a sufficient extent for laboratory modeling and testing of potential drugs. Some examples of the use of zebrafish in modeling a number of age-related pathologies and aging in general, including known methods for detection and initiation of aging, have been discussed in this review.

KEY WORDS: *Danio rerio*, biological model, aging, age-related diseases, aging detection and initiation

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ОП – Остеопороз
МПК – Минеральная плотность костной ткани
РНК – Рибонуклеиновая кислота
ГК – Глюкокортикоиды
ГИОП – Глюкокортикоид–индуцированный остеопороз
TRAP – Тартрат–резистентная кислая фосфатаза
ALP – Щелочная фосфатаза
АС – Атеросклероз
ССЗ – Сердечно–сосудистые заболевания

ЛПНП – липопротеины низкой плотности
ГМК – Гладкомышечные клетки
ВХД – Диета с высоким содержанием холестерина
СД2 – Сахарный диабет 2 типа
ТМО – Микроокружение опухоли
МНС – Иммуногенные антигены
БА – Болезнь Альцгеймера
БАС – Боковой амиотрофический склероз
ДНК – Дезоксирибонуклеиновая кислота
SASP – Ассоциированный со старением секреторный фенотип
АФК – Активные формы кислорода
IL-6 – Интерлейкин–6
MCP-1 – Моноцитарный хемоаттрактантный белок–1
ПЦР – Полимеразная цепная реакция
ТСГ – Тетрагидроксистерилбен глюкозид

© 2025, К.В. Золотарёв, Н.В. Бодоев
Поступила в редакцию 27.05.2025

ВВЕДЕНИЕ

Население мира продолжает расти, причем лица старше 65 лет являются самой быстрорастущей возрастной группой. В 2019 г. каждый одиннадцатый человек в мире был старше 65 лет. В некоторых регионах, например в Европе и Северной Америке, к 2050 г. каждый четвертый человек будет старше 65 лет. Старение является ключевым фактором риска множественных расстройств. Более 75% пожилых людей страдают по крайней мере одним хроническим заболеванием, и проблема «нездорового долголетия» для пожилых людей является серьезной. Чтобы способствовать здоровому процессу старения и предотвращать проблемы со здоровьем, связанные со старением, правильное понимание механизмов старения и разработка эффективных и доступных стратегий для борьбы со старением имеют экономическое и социальное значение. При этом на животных, имеющих небольшую по сравнению с человеком продолжительность жизни, результат моделирования старения можно получить в течение значительно более короткого срока [4].

Для изучения патологий и старения животных и человека широко используются клеточные модели *in vitro* [13]. Тем не менее, из-за неспособности имитировать сложность систем органов и тела, а также различных механизмов старения в культурах клеток и дифференцировавшемся взрослом организме, требуется верификация результатов с использованием подхода *in vivo* после исследований *in vitro*. Распространенные подходы *in vivo* для понимания патологий и старения основаны на моделях грызунов. Как и в случае с подходами *in vitro*, существуют разные способы вызвать старение *in vivo*. Типичные модели «старых» грызунов включают мышей или крыс высокого хронологического возраста, экзогенное воздействие ксенобиотиков и модели нокаута. Типичная продолжительность жизни лабораторных грызунов составляет около двух с половиной лет. Чтобы использовать грызуна, который считается «старым», исследователям необходимо подождать как минимум восемнадцать месяцев после рождения грызуна, чтобы провести эксперименты. Это не только отнимает много времени, но и требует дополнительных затрат только на содержание грызунов до момента их использования в эксперименте. Типичный размер помета лабораторных грызунов также составляет от шести до восьми детенышей, а средняя продолжительность беременности занимает от девяти до двадцати одного дня. Поэтому в разведении наблюдается небольшой оборот, который может стать проблемой для генетически модифицированных грызунов. Чтобы создать нокаутную модель, необходимо вывести как минимум три поколения грызунов для получения гомозиготного генотипа. Несколько групп грызунов также необходимо будет генетически модифицировать, чтобы произвести достаточное количество грызунов, гомозиготных для нокаута гена.

Это само по себе также отнимает много времени и может вызвать некоторые трудности.

1. ОСОБЕННОСТИ РЫБ ВИДА ДАНИО-РЕРИО
КАК МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОЛОГИЙ ЧЕЛОВЕКА

В 1960 г. американский исследователь Дж. Стрейзингер выбрал новый объект для своих работ по изучению эмбрионального развития позвоночных. Им оказалась обычная обитательница многих любительских аквариумов – рыба вида данио-рерио, или рыба-зебра (*Danio rerio*), которая за свой полосатый окрас на английском языке называется zebrafish.

На сегодняшний день данио-рерио – один из самых распространенных видов модельных животных. С помощью этих рыб исследуют развитие позвоночных, их иммунитет, физиологию, а также воздействие на эмбрионы и взрослых животных токсинов и лекарственных средств. Рыбы используются для изучения поведенческих реакций в разных обстоятельствах и для генетических исследований.

Одним из основных преимуществ использования данио-рерио в качестве биологической модели является ее быстрое развитие и период воспроизводства. Самка данио-рерио способна производить более ста эмбрионов за кладку. Одна и та же особь может размножаться несколько раз в месяц, но рекомендуется не чаще одного раза в неделю. Личинки вылупляются в течение 72 часов после оплодотворения и могут быть использованы для экспериментов уже через пять дней после оплодотворения благодаря развитию и функционированию всех основных систем органов. Половой зрелости достигают в течение трех месяцев [1]. Еще одним важным преимуществом данио-рерио перед другими моделями животных является их доступность. Например, стоимость исследования на модели данио-рерио составляет менее 1/1000 стоимости аналогичного исследования на мышах [29]. Данио-рерио могут содержаться в одном аквариуме и увеличение его размера позволяет содержать большее количество рыб в ограниченном пространстве. Процедура содержания относительно простая, однако для обеспечения выживаемости этим рыбам необходимы определенная температура воды, pH и проводимость. Такие факторы, как качество воды, кормление и плотность обитания рыб, могут влиять на скорость их развития [1].

Более широкое применение по сравнению с другими модельными видами данио-рерио получили также за счет возможности масштабирования экспериментов с ними путем высокопроизводительного анализа. Коммерческие компании предлагают готовые решения по размещению аквариумов с различными вариантами автоматизации, и это позволяет небольшой группе исследователей работать сразу с тысячами организмов [4].

Отметим, что не все физиологические и патологические процессы человеческого организма можно воссоздавать на этой модели. Например, принципиально отличается дыхательная система рыб. Совсем иначе у них работает и выделительная система. Однако для экспериментов на данио-рерио остаются более общие для позвоночных процессы: тканевое развитие, нервная деятельность, воспаление, регенерация, неспецифический иммунитет и другие.

Для наглядности основные достоинства и недостатки данио-рерио как модельного организма сведены в таблицу 1.

2. ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДАНИО-РЕРИО

Модели на основе данио-рерио используются в биологии развития и эмбриогенезе, но чаще всего применяются для исследования заболеваний человека из-за высокой степени генетического, анатомического и физиологического сходства с людьми. Более 80% белков, связанных с патологиями человека, имеют ортологи у данио-рерио, а публикация эталонного генома данио-рерио в 2013 г. ускорила моделирование заболеваний на этом организме.

Проведен ряд углубленных исследований на данио-рерио в рамках клеточной биологии и биологии развития. Существуют многочисленные успешные случаи применения данио-рерио в качестве модели для исследования различных заболеваний человека, включая возрастзависимые: например, атеросклероз, сердечная недостаточность, воспалительные заболевания, заболевания опорно-двигательного аппарата [35]. Рассмотрим ряд таких заболеваний.

2.1. Остеопороз

Остеопороз (ОП) — возрастное метаболическое заболевание, характеризующееся низкой минеральной плотностью костной ткани (МПК), ухудшением архитектуры кости и возникновением хрупких переломов. Его распространенность растет во всем

мире, и вполне вероятно, что устойчивое увеличение продолжительности жизни усугубит и без того тревожную ситуацию. Современные методы лечения в основном основаны на антирезорбтивных препаратах, которые также связаны с ограниченной долгосрочной эффективностью и серьезными побочными эффектами. Разрабатываются альтернативные методы лечения, основанные на новых технологиях, таких как мезенхимальные стволовые клетки и обратная генетика с использованием малых не кодирующих РНК и микроРНК. Однако большая часть исследовательских усилий в настоящее время сосредоточена на открытии костных анаболических агентов, которые будут способствовать пролиферации/дифференцировке остеобластов или увеличивать отложение минералов в кости, чтобы противодействовать снижению МПК. Мелкие лучеперые рыбы, такие как данио и медака, все чаще используются в качестве моделей заболеваний скелета человека, поскольку они обладают многими анатомическими и физиологическими особенностями развития скелетов млекопитающих. Кроме того, изучена возможность генетических манипуляций/редактирования этих двух видов рыб. Разработано несколько мутантных линий, способных моделировать нарушения скелета человека.

Глюкокортикоид-индуцированный остеопороз. Глюкокортикоиды (ГК) — мощные иммунодепрессанты, используемые для лечения воспалительных заболеваний, однако долгосрочная терапия приводит к комплексным побочным эффектам, включая вторичный остеопороз. У людей ГК влияют на костный метаболизм, уменьшая образование костей и васкуляризацию и увеличивая резорбцию костей. В условиях глюкокортикоид-индуцированного остеопороза (ГИОП) остеобласты испытывают повышенный апоптоз, снижаются их активность и количество. Было показано, что мелкие лучеперые рыбы, такие как данио и медака, реагируют на лечение ГК аналогичным образом и представляют собой ценный вариант для изучения ГИОП. Установлено, что оксификация тканей снижается у личинок данио, подвергшихся

ТАБЛИЦА 1.

Ключевые достоинства и недостатки данио-рерио как модельного организма для исследования механизмов старения и оценки геропротективных свойств соединений

Достоинства	Недостатки
1. Значительно более короткий жизненный цикл по сравнению с млекопитающими, что позволяет быстрее достичь его поздних стадий 2. Более низкая стоимость исследования на несколько порядков 3. Прозрачность покровов тела на стадиях эмбриона и личинки, что позволяет визуально наблюдать патологические процессы и дефекты развития при помощи световой микроскопии	1. Недоразвитость многих систем организма, в частности, иммунной, пищеварительной, нервной по сравнению с аналогичными человеческими, вызванная значительной эволюционной удаленностью рыб от людей 2. Несоответствие путей введения веществ в организм рыбы по сравнению с млекопитающими, следствием чего является критическая степень влияния химической структуры исследуемого вещества на степень и пути усвоения вещества рыбой, что нехарактерно для пищеварительного тракта млекопитающих 3. Очень небольшая по сравнению с человеческой продолжительность жизни, что делает крайне сложным моделирование воздействия исследуемых веществ на поздних стадиях жизненного цикла рыбы

воздействию преднизолона, и что фенотип может быть частично восстановлен при лечении бисфосфонатами, что является ключевым сходством с человеческим ГИОП. Было показано, что у личинок данио-рерио ресвератрол противодействует фенотипу ОП, индуцированному дексаметазоном. Модели взрослых данио-рерио также использовались для изучения ГИОП. Было показано, что обработка данио-рерио преднизолоном во время регенерации чешуи вызывает у регенератов остеопоротический фенотип из-за несбалансированного формирования кости. Чешуя рыб с ОП демонстрировала повышенную активность остеокластов, повышенную резорбцию матрикса и индуцированный профиль экспрессии генов остеопороза в остеобластах и остеокластах.

Остеопороз также провоцируется высоким содержанием глюкозы и жиров, что подтвердили недавние исследования взаимодействия между костями и метаболизмом глюкозы или жира. Таким образом, данио-рерио может быть выбрана в качестве модели для изучения взаимодействия между гипергликемией/ожирением и костями при патологических состояниях. Известно, что у людей хроническая гипергликемия отрицательно влияет на гомеостаз костей, приводя к повышению хрупкости костей, снижению механической прочности и увеличению риска переломов из-за нарушения формирования внеклеточного матрикса и функции костных клеток. На модели диабета у данио-рерио было показано, что при гипергликемии нарушаются как личиночный остеогенез, так и регенеративная способность лучей хвостового плавника, и что это состояние можно исправить путем лечения аналогом витамина D (парикальцитол) и кальцимитетиком (цинакальцет). Кроме того, исследования с использованием взрослых данио-рерио, подвергшихся воздействию глюкозы, выявили снижение минерализации матрикса чешуи, наличие лакун резорбции кости, связанных с интенсивной активностью остеокластов, и изменение экспрессии генов, регулирующих кость, аналогично тому, что недавно было обнаружено в костях грызунов, больных диабетом, и человека. Наличие лакун резорбции кости, связанных с интенсивной активностью остеокластов TRAP и снижением активности остеокластов ALP, также наблюдалось в чешуе взрослых данио-рерио, получавших корм с высоким содержанием жиров и имеющих признаки ожирения [19].

Стресс, вызываемый высоким содержанием железа, также использовался для моделирования фенотипа, подобного остеопорозу, у данио-рерио. Как у личинок, так и у взрослых рыб наблюдалось значительное снижение минерализации костей и серьезные дефекты развития хряща. Интересно, что дефектный остеогенез был значительно восстановлен с помощью алендроната, препарата, который, как известно, эффективен против остеопороза человека.

Был проведен транскриптомный и протеомный анализ у данио-рерио, подвергавшихся воздействию ГК с последующим лечением различными костными анаболическими соединениями, что привело к идентификации нескольких возможных терапевтических мишеней и, таким образом, потенциально открыло новые пути лечения ОП [19].

2.2. Атеросклероз

Атеросклероз (АС) является патологической основой многих сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), представляя серьезную угрозу здоровью человека, являясь одной из ведущих причин смертности во всем мире. АС характеризуется отложением большого количества липидов в артериях, которые образуют бляшки и вызывают мышечный эластичный стеноз артерий, что приводит к окклюзии просвета или разрывному кровотечению. Патологический процесс АС очень сложен. Во-первых, избыток липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) постепенно накапливается под эндотелием и превращается в окисленный ЛПНП (Ох-ЛПНП), что вызывает воспаление и приводит к высвобождению избыточного количества хемокинов из эндотелиальных клеток. Привлекаемые хемокинами моноциты мигрируют в интиму кровеносных сосудов и становятся макрофагами при действии макрофагальных колониестимулирующих факторов. Затем макрофаги поглощают Ох-ЛПНП и превращаются в пенистые клетки, которые высвобождают ряд факторов, которые индуцируют миграцию гладкомышечных клеток (ГМК) и образование фиброзной капсулы. Впоследствии ГМК постепенно теряются из фиброзной капсулы, а проникающие макрофаги разрушают богатый коллагеном матрикс капсулы. Эти два механизма приводят к истончению фиброзной капсулы, что приводит к разрыву бляшки и тромбозу. Создание животных моделей атеросклероза имеет большое значение для изучения его сложного патогенеза, а также разработки и испытания лекарств от АС. Хотя исследователи создали множество моделей для изучения АС на кроликах, мышах и крысах, ограничения этих моделей затрудняют мониторинг развития атеросклероза. Поэтому данио-рерио стала популярной альтернативной животной моделью для исследования атеросклероза [27].

Данио-рерио – пойкилотермные позвоночные, которые предпочитают липиды как источник энергии, тогда как гомойотермные млекопитающие предпочитают углеводы. Хотя профили липидов плазмы существенно различаются у данио-рерио и человека, процесс липидного метаболизма высоко консервативен. Гены, участвующие в метаболизме липопротеинов и липидов, такие как *apob*, *apoe*, *apoA1*, *ldlr*, *apoc2*, *lpl*, *lcat* и *cetp*, консервативны у данио и человека. Примечательно, что белок Apob у данио-рерио эквивалентен APOB100, а не APOB48 у человека. Поскольку

ЛПНП и липопротеины очень низкой плотности, содержащие АРОВ100, имеют более длительный период полураспада в плазме, у данио-рерио чаще развивается АС. Кроме того, белок-переносчик эфира холестерина, фермент, суммарный эффект которого способствует развитию АС у людей, экспрессируется у данио-рерио, но не у мышей. По сравнению с другими животными моделями АС, резкое увеличение количества окисленных липопротеинов наиболее значимо у данио-рерио, получавших корм с высоким содержанием холестерина (ВХД), что делает их отличными моделями для изучения механизма окисления липопротеинов. Однако модели на данио имеют и свои недостатки. Пробы крови можно брать только в небольшом количестве от данио-рерио старше 45 дней, вместо этого для исследований на ранних стадиях развития используют гомогенаты нескольких личинок. Профиль липопротеинов и состав ЛПНП различаются, и на моделях АС у данио-рерио не наблюдается поражений на поздней стадии. Тем не менее данио-рерио стали популярной альтернативной моделью животных для исследований АС, особенно в отношении раннего прогрессирования АС. Таким образом, было создано и широко используется несколько моделей данио-рерио. Рассмотрим эти модели.

Модель, основанная на кормлении кормом с высоким содержанием холестерина. Взрослые данио-рерио, получавшие в течение 8–12 недель 4% (по массе) корма ВХД, склонны к развитию гиперхолестеринемии, при этом уровень общего холестерина в плазме достигает 800 мг/дл, что в 4 раза выше, чем у рыб, получавших обычное питание. Накопление липидов сосудов зависит от дозы при кормлении различными концентрациями холестерина (2–10%), при этом наиболее воспроизводимые результаты достигаются при 4%-ном содержании холестерина в корме [27].

Разработаны мутантные модели данио-рерио, имеющие мутации по генам *ldlr*, *apoc2* и *lxr*. Эти модели используются для изучения атеросклероза, при этом уделяется особое внимание динамическому мониторингу прогрессирования атеросклероза, механистического изучения терапевтического вмешательства и скрининга лекарств, а также оценки воздействия других факторов риска. Так, мутация *ldlr* приводит к выключению ЛПНП-рецепторов, что приводит к накоплению холестерина в крови, т.к. фракция ЛПНП, в составе которой он находится, не всасывается клетками из крови. Мутация *apoc2* приводит к накоплению липопротеинов в кровяном русле, т.к. не происходит гидролиз липопротеинов в капиллярах, необходимый для усвоения их компонентов питаемыми тканями. Мутация *lxr* приводит к остановке регуляции липидного гомеостаза в крови, осуществляемой клетками печени.

Существует несколько теорий патогенеза АС, включая повреждение эндотелия, миграцию и проли-

ферацию гладкомышечных клеток, а также образование пенистых клеток из моноцитов. АС также связан с окислительным стрессом, некодирующей РНК и воспалением. Однако ни одна теория четко не объясняет прогрессирование АС. Современные клинические средства лечения АС включают статины, антитромботические препараты и хирургическое вмешательство для облегчения осложнений, но эффективных или специфических препаратов для лечения АС до сих пор не существует. Необходимы модели, которые могут имитировать средние и поздние стадии, такие как кормление кормом с дефицитом витамина С, что приводит к сильному окислительному стрессу и ускорению атеросклеротического процесса, или создание новых трансгенных животных, у которых стенки сосудов уязвимы к разрыву под воздействием атеросклеротических бляшек. Это даст возможность испытывать новые лекарства или находить терапевтические мишени у данио-рерио, более подходящие для экстраполяции на людей с АС [27].

2.3. Сахарный диабет 2 типа

Несмотря на обширные исследования сахарного диабета 2 типа (СД2), не существует полноценного лечения, лекарств или методов профилактики. Для разработки новых терапевтических средств необходимо правильное изучение моделей СД2 и проведение дальнейших доклинических исследований. Диабет индуцировали у животных антителами, химическими, генетическими, гормональными, вирусными и хирургическими методами или их комбинацией. Различные подходы к индукции диабета экспериментально проверены на разных видах животных. Хотя в более чем 85% публикаций в качестве подходящей модели для индукции диабета предложены крысы, модели диабета на данио-рерио используются все чаще. В обзоре [21] проведено сравнение различных аспектов доступных методов индукции гипергликемии у данио-рерио. Оценивая 26 одобренных моделей СД2 у данио-рерио, можно выбрать лучшую модель, соответствующую задачам исследования.

Негенетические способы индукции гипергликемии требуют много времени по сравнению с генетическими способами, но при этом они проще и дешевле в исполнении. В целом, лучшим методом моделирования СД2 у данио-рерио признана модель гипергликемии с ожирением [21].

2.4. Рак

Проблемы лечения рака в значительной мере связаны с трудностью полного понимания механизмов, с помощью которых раковые клетки избегают иммунного ответа в микроокружении опухоли (ТМО). Данио-рерио обладают теломерами, подобными человеческим, которые постепенно укорачиваются с возрастом. Данио-рерио выращивают в нестерильных

условиях, что делает их физиологически актуальными для изучения иммунных реакций. В сочетании с возможностями визуализации данио-рерио позволяют в режиме реального времени и неинвазивно контролировать взаимодействие опухолевых и иммунных клеток посредством дифференциальной флуоресцентной маркировки клеток.

Как и люди, данио-рерио обладают двумя основными ветвями иммунитета с полноценными врожденными и адаптивными компонентами. Кроме того, у рыб также есть два первичных лимфоидных органа: почечный мозг (эквивалент костного мозга у млекопитающих) и тимус, который у взрослых рыб сморщивается, как и у человека, а также один вторичный периферический орган – селезенка у взрослых рыб. Однако одно отличие с точки зрения вторичных иммунных органов заключается в том, что у данио-рерио, как и у других костистых рыб, отсутствуют лимфатические узлы. Вместо этого подавляющее большинство взаимодействий между антиген-презентирующими клетками и лимфоцитами происходит в селезенке. Клетки рыб также экспрессируют молекулы МНС класса I и II, что указывает на консервативность взаимодействия между врожденной и адаптивной иммунной системой.

С точки зрения адаптивного иммунитета данио-рерио обладают функциональными Т- и В-клетками после 3–6 недель развития. Развитие Т-клеток происходит в тимусе личинок и взрослых рыб, тогда как зрелые Т-клетки находятся в костном мозге взрослых рыб. Поэтому сходство в развитии иммунной системы данио-рерио и человека позволяет экспериментально моделировать ТМО человека у данио-рерио, чтобы визуализировать и понять сложные взаимодействия между иммунными и опухолевыми клетками.

Важно отметить, что ряд работ с использованием данио-рерио и других лучеперых рыб дали в качестве результата новое понимание регуляции ТМО, а также продемонстрировали возможность использования ксенотрансплантатов данио-рерио для испытания подходов персонализированного лечения [11].

Синдром предрасположенности к раку – это редкие, обычно моногенные заболевания, возникающие в результате мутаций зародышевой линии, повышающих вероятность развития рака. Помимо более высокой заболеваемости раком, у предрасположенных людей опухоль возникает раньше, и они должны проходить долгосрочный мультимодальный скрининг на рак для более раннего выявления и начала лечения. Опухоли, развивающиеся на моделях рака данио-рерио, гистологически и молекулярно схожи с человеческими аналогами, что подтверждает достоверность этих моделей. На данио-рерио можно осуществлять как крупномасштабный скрининг случайного мутагенеза для выявления потенциальных генов высокой частотой мутаций, так и недавно оптимизированные стратегии редактирования генома. Эти методы значительно расширили

возможности исследовать влияние определенных мутаций и то, как эти поражения влияют на онкогенез и фенотип заболевания. Эти уникальные характеристики делают данио-рерио мощным инструментом *in vivo* для моделирования синдромов предрасположенности к раку, и поэтому некоторые из них уже созданы, в том числе те, которые повторяют синдром Ли-Фраумени, синдромы наследственной недостаточности костного мозга и некоторые другие патогенные мутации в генах предрасположенности к раку. Кроме того, на данио-рерио можно проводить доклинические испытания лекарств средней и высокой производительности для выявления соединений, которые могут представлять собой новые подходы к лечению или даже предотвращать развитие рака. В обзоре [11] освещены и обобщены результаты моделирования предрасположенности к раку с помощью данио-рерио. Обсуждено, как эти модели рака на данио-рерио могут улучшить понимание генетических механизмов, вызывающих предрасположенность к раку, и их потенциала для открытия терапевтических и/или профилактических соединений, которые изменяют естественное течение заболевания у уязвимых детей, подростков и взрослых [11].

Живучие, адаптируемые к воздействию рыбки специальных линий позволяют пересадить им культуры опухолевых клеток от пациентов. В работе [12] описана клинически значимая модель множественной миеломы человека у данио-рерио *in vivo* для доклинического изучения терапевтической эффективности. Такой подход позволяет протестировать на реальных опухолях эффективность различных лекарственных препаратов.

2.5. Сердечная недостаточность

В статье Narumanchi S. et al. [16] рассмотрены модели сердечной недостаточности на данио-рерио, установленные генетическими манипуляциями (например, TALEN/CRISPR-Cas9-опосредованный нокаунт или нокаут, мутагенез под действием морфолина) или медикаментозным лечением (такими как аристолохиновая кислота, изопротеренол и стрептозоцин). Исследовано использование данио-рерио для изучения сердечной недостаточности и ремоделирования сердца, а также рассмотрены генетические, лекарственные и другие модели сердечной недостаточности на данио-рерио, обсуждены преимущества и недостатки использования данио-рерио для моделирования заболеваний сердца у человека. Интересно, что данио-рерио могут восстановить сердечную деятельность после остановки сердца. Таким образом, можно надеяться, что определение молекулярных механизмов, лежащих в основе регенеративной способности данио-рерио, даст значительную информацию для продвижения лечения сердечной недостаточности человека в предстоящие годы [16].

2.6. Болезнь Альцгеймера

Болезнь Альцгеймера (БА) – прогрессирующее нейродегенеративное заболевание. Это наиболее распространенная форма деменции в мире, от которой страдают почти 47 млн человек. По прогнозам, к 2030 г. в мире число пациентов с болезнью Альцгеймера достигнет 82 млн. Несмотря на то, что были проведены обширные исследования, ранняя диагностика БА все еще невозможна.

Рыбы вида данио обладают нейронной структурой организацией позвоночных, а их геном имеет несколько ортологов генов, подобных тем, которые мутируют при болезни Альцгеймера у человека. Было проведено множество исследований для уточнения возможностей данио-рерио как модели для изучения болезни Альцгеймера. Однако такие аспекты, как поведение, физиология, нейроанатомическая схема рыб и связь между нейроразвитием и нейродегенерацией, все еще нуждаются в более глубоком изучении. В настоящее время требуется хорошая трансгенная модель БА, экспрессирующая как A β , так и тау-белок. Это поможет завершить решение головоломки понимания БА, в которой до сих пор не хватает некоторых частей [20].

2.7. Боковой амиотрофический склероз (БАС)

Это смертельное неврологическое заболевание, характеризующееся прогрессирующей дегенерацией мотонейронов головного и спинного мозга. Спинномозговые мотонейроны выравниваются по длине спинного мозга в пределах позвоночного столба и тянут длинные аксоны, соединяясь со скелетными мышцами, покрывающими поверхность тела. Из-за такой анатомии спинальные мотонейроны являются одними из самых трудных для наблюдения клеток *in vivo*. Личинки данио-рерио имеют прозрачные тела, которые позволяют неинвазивно визуализировать целые мотонейроны спинного мозга. Эта уникальная особенность в сочетании с возможностью редактирования генома, фармакологии и оптогенетики позволяет проводить функциональный анализ белков, связанных с БАС, в мотонейронах спинного мозга *in vivo* на субклеточном уровне. Разработана оптогенетическая модель БАС данио-рерио, в которой применяется освещение для контроля олигомеризации, фазового перехода и агрегации связанного с БАС ДНК/РНК-связывающего белка TDP-43. Существуют некоторые перспективы моделирования БАС на данио-рерио для понимания ключевых аспектов патогенеза и разработки новых методов лечения БАС [2].

2.8. Воспалительные заболевания

В статье Си с соавт. [31] обобщены различные модели воспалительных заболеваний, основанные на данио-рерио и описаны воспалительные процессы, вызванные ранением, воздействием вредных веществ

К.В. ЗОЛОТАРЁВ, Н.В. БОДОЕВ
ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ *DANIO RERIO*
В КАЧЕСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕРОПРОТЕКТИВНЫХ
СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

или мутациями. Эти модели позволили детально изучить клеточные и молекулярные механизмы, лежащие в основе воспалительной реакции, дополнив знания о механизмах поведения лейкоцитов и идентификации потенциальных мишеней для лекарств. Кроме того, описанные модели использовались для скрининга библиотек соединений. Это привело к открытию новых важных мишеней для противовоспалительных препаратов, таких как ErbB. Кроме того, были протестированы или идентифицированы различные потенциальные лекарственные средства, такие как натуральные экстракты, например, фукоидан, ташинон ПА и цимопол. Было показано, что эти модели, основанные на данио-рерио, очень полезны для изучения молекулярных и клеточных аспектов воспалительной реакции и для открытия новых мишеней для лекарств. Кроме того, эти модели оказались эффективными инструментами скрининга потенциальных лекарств, обеспечивая ускорение доклинической фазы разработки противовоспалительных препаратов [31].

2.9. Прочие заболевания

В работе Pole A., Dimri M., Dimri G.P. [23] разработан простой анализ на основе холестерина *in vivo*, который позволяет проводить скрининг иммуномодулирующих терапевтических средств на трансгенных моделях данио-рерио. Этот анализ может контролировать вызванное потреблением пищи с высоким содержанием холестерина острое воспаление кишечника у личинок данио, что может облегчить и ускорить обнаружение лекарств при воспалительных заболеваниях кишечника человека.

В ходе работы по поиску терапии наследственного синдрома Драве исследовали более тысячи соединений, потенциально способных влиять на судорожные приступы. В результате только диметадон – антагонист кальциевых каналов Т-типа – обеспечил больным мальчикам нормальную энцефалограмму [6].

На данио-рерио проведены исследования таких связанных друг с другом состояний, как СД2 и ожирение [5].

3. ИЗВЕСТНЫЕ СПОСОБЫ ВЫЯВЛЕНИЯ И ИНИЦИИРОВАНИЯ СТАРЕНИЯ У ДАНИО-РЕРИО

Старение – неизбежный процесс, характеризующийся накоплением изменений в организме и возникновением заболеваний. Феномен старения является одной из наиболее популярных тем научных исследований. Универсальный маркер старения не найден. Процесс старения имеет различные фенотипы и включает в себя множество различных маркеров, участвующих в самых разных физиологических процессах, таких как воспаление и рак. Исследования старения данио-рерио сравнительно недавно стали привлекать к себе внимание и поэтому находятся на начальной стадии. Данио-рерио могут быть хронологически состарен-

ными, подвергаться воздействию экзогенных ксенобиотиков (окислительный стресс, УФ-облучение) и генетически модифицироваться для создания сопоставимых со старением человека состояний. Манипулирование факторами окружающей среды и другими генетическими инструментами можно использовать для вмешательства в процессы старения данио-рерио [1].

Особи одного и того же хронологического возраста могут сильно различаться по биологическому возрасту, который может увеличиваться под воздействием внешних стрессоров. Старение на клеточном и субклеточном уровне организации жизни называется клеточным старением. Клеточное старение наблюдается при многих воспалительных и возрастных заболеваниях, таких как болезнь Альцгеймера, остеоартрит и сердечно-сосудистые заболевания. Стареющие клетки приобретают секреторный фенотип, связанный со старением (SASP), который представляет собой комбинацию протеаз, иммуномодуляторов, факторов роста и воспалительных цитокинов. Внешние стрессоры, такие как курение, пребывание на солнце, загрязнение окружающей среды и т. д., могут преждевременно привести к образованию стареющих клеток с проявившемся SASP. Избирательное уничтожение стареющих клеток может помочь устранить дальнейшее повреждение соседних клеток и органов. Было проведено множество исследований, направленных на выявление биомаркеров, связанных со старением. Установлено, что эти биомаркеры участвуют во многих других физиологических процессах и заболеваниях. Таким образом, на данный момент еще не обнаружен ни один биомаркер, связанный исключительно со старением. Несмотря на этот факт, существуют общие признаки старения, которые можно использовать для подтверждения старения.

3.1. Биомаркеры старения

Многие из биомаркеров, используемых для идентификации стареющих клеток, неспецифичны для старения и могут наблюдаться при различных заболеваниях, которые содержат маркеры воспаления, маркеры-супрессоры опухолей, маркеры, основанные на остановке клеточного цикла, а также другие. Ниже обсуждаются некоторые биомаркеры, которые частично или полностью участвуют в процессе старения.

Лизосомальная активность. Среди наиболее охарактеризованных биомаркеров для идентификации старения есть те, которые относятся к лизосомальной активности, такие как ассоциированная со старением β -галактозидаза – фермент, который гидролизует β -галактозиды до моносахаридов в стареющих клетках при pH 6,0. Активность β -галактозидазы повышается в стареющих клетках за счет увеличения содержания лизосом, включая размер и количество. Это приводит к сверхэкспрессии лизосомальной β -галактозидазы, обнаруживаемой в стареющих клетках. Однако ак-

тивность этого фермента присутствует в покоящихся клетках и использование ее как исключительно-го биомаркера старения является в существенной степени допущением. Несмотря на это, активность β -галактозидазы является наиболее широко используемым биомаркером старения. Другим биомаркером, связанным с лизосомальной активностью, является липофусцин. Чем больше липофусцина присутствует в клетке, тем «старее» считается клетка [14].

Активные формы кислорода. Присутствие активных форм кислорода (АФК) является еще одним биомаркером, который может быть связан со старением, но не является уникальным только при старении. Избыточная выработка АФК или недостаток защитных сил в виде антиоксидантов могут привести к клеточному старению и усугубить его. Считается, что митохондриальные АФК являются ключевым инициатором клеточного старения, которое, как было показано на моделях грызунов, активирует SASP. С увеличением окислительного повреждения внутри митохондрий возникает дисбаланс в событиях слияния-деления, что может объяснить отмеченные ранее нарушения в морфологии митохондрий, одним из которых являются гигантские митохондрии. Клетки и, следовательно, ткани и органы подвергаются воздействию АФК от внешних стрессоров, а также внутри самих клеток. Большая часть внутриклеточных АФК (около 90%) образуются в митохондриях с помощью цепи переноса электронов. Другим внутриклеточным источником АФК является работа различных ферментов. Ферменты семейства НАДФН-оксидаз наряду с другими ферментами, присутствующими в пероксисомах с оксидазной активностью, являются естественными продуцентами АФК. Эти ферменты участвуют во многих физиологических процессах, таких как передача сигналов клетками, экспрессия генов и посттрансляционная обработка белков. Однако неправильная регуляция этих ферментов имеет пагубные последствия, которые могут играть роль в клеточном старении. Внешние стрессоры, которые могут привести к образованию АФК, включают УФ-излучение солнца и соляриев, рентгеновские лучи, загрязнители окружающей среды и курение [18].

Маркеры повреждения ДНК. Обобщая теоретические и экспериментальные данные о возрастном укорочении теломер, возрастных заболеваниях и сильной связи с другими маркерами клеточного старения, Бернадотте с соавт. обосновали, что укорочение теломер является репрезентативным биомаркером клеточного старения [3].

Маркеры на основе клеточного цикла и пролиферации. Одной из наиболее характерных особенностей стареющих клеток является остановка клеточного цикла. Поэтому экспрессия генетических маркеров, связанных с прекращением клеточного цикла, широ-

ко используется при идентификации стареющих клеток [1, 25].

Воспалительные маркеры. Наиболее известный цитокин SASP – интерлейкин-6 (IL-6) – вырабатывается на ранних стадиях воспаления и повреждения тканей различными типами клеток. IL-6 широко изучался на людях и животных из-за его значительной роли во многих хронических воспалительных состояниях, включая метаболические заболевания. Несмотря на то, что его классифицируют как провоспалительный, некоторые исследования показали, что этот цитокин также может обладать противовоспалительными свойствами за счет ингибирования других провоспалительных маркеров, таких как фактор некроза опухоли. Интересно, что IL-6, наряду с другими цитокинами, может запускать и вызывать преждевременное старение [1].

В работе Yousefzadeh M.J. et al. [33] идентифицирован моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 (MCP-1/CCL2) – хемокин, ответственный за рекрутирование моноцитов, как потенциальный биомаркер биологического возраста. Уровень MCP-1 в крови увеличивается в зависимости от возраста у мышей дикого типа. Генетические и фармакологические вмешательства, замедляющие старение этих мышей, значительно снизили уровни MCP-1 в сыворотке. У пожилых людей с аортальным стенозом уровни MCP-1 были значительно выше у ослабленных людей по сравнению со здоровыми. Эти данные показывают, что MCP-1 можно использовать в качестве маркера биологического возраста млекопитающих, который реагирует на вмешательства, продлевающие здоровое долголетие [33].

Маркеры, связанные со структурными изменениями. Стареющие клетки известны своими морфологическими отличиями от здоровых клеток. Эти клетки выглядят намного крупнее, уплощенными и содержат множество ядер, вакуолей и лизосом, функция которых постепенно ухудшается [26]. Имеются также сообщения о связи морфологического увеличения ядрышка со старением клеток [9], а также аномалиями морфологии их митохондрий [28]. Как упоминалось ранее, стареющие клетки претерпевают структурные изменения, которые отличают их от других клеток.

Методы обнаружения старения с помощью маркеров включают использование световой микроскопии, проточной цитометрии, иммунофлуоресценции, вестерн-блоттинга, полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуногистохимии, иммуноферментного анализа (ИФА), ферментативного окрашивания, гистохимии и т. д. [1].

3.2. Неспецифичные методы обнаружения старения

Модели хронологического старения. Типичная продолжительность жизни данио-рерио составляет

от трех до трех с половиной лет, но в оптимизированных лабораторных условиях они могут жить до пяти лет, тогда как мыши обычно живут от двух до трех лет. Это ставит данио-рерио в один ряд с мышами по продолжительности жизни. Чтобы создать хронологическую модель старения данио-рерио, нужно просто дать рыбе возможность со временем повзрослеть. В хронологических моделях старения данио-рерио имеют место дегенеративные изменения, такие как снижение репродуктивной и регенеративной функции, циркадный ритм, изменения сна и когнитивных функций, а также морфологические изменения. Гистопатологический анализ этих рыб показал, что истощение и искривление позвоночника увеличивается у рыб старше 24 месяцев. Обнаруживаются и другие возрастные изменения, включая гиперплазию слизистых клеток, некроз печени, клубочковые пучки в почках и увеличение отложений меланина в почках [8]. Отличительной чертой старения человека являются изменения в режиме сна. Как и у людей, у данио-рерио наблюдаются возрастные циркадные изменения. Исследование показало, что к трем годам у данио-рерио наблюдаются десинхронизированные, уменьшенные и фрагментированные циркадные ритмы. У более старых данио-рерио также более высокий порог возбуждения, уменьшенный ночной сон и более низкий уровень активности по сравнению с более молодыми рыбами. Было обнаружено, что экспрессия циркадных генов, таких, как *Bmal1* и *Per1*, у старых данио-рерио изменена, а также прогрессирует снижение уровня гормона мелатонина, несмотря на неизменную экспрессию рецептора мелатонина. Это исследование предполагает, что идентифицированные гены могут играть важную роль в старении [10].

Белки теплового шока. Другой характеристикой старения является снижение способности поддерживать гомеостаз при внешних стрессах. Белки теплового шока – это высококонсервативные белки, которые связаны с модуляцией тепловых стрессов. Экспрессия этих белков увеличивается в ответ на такие факторы, как жара, тяжелые металлы, АФК и т. д., и снижается с возрастом. В исследовании, оценивающем влияние старения на реакцию теплового шока у трехмесячных и двухлетних данио-рерио, исследователи обнаружили, что уровни белка теплового шока были увеличены, при том что базовый уровень этого белка у более старых рыб ниже. Эти результаты показывают, что существуют возрастные различия в реакции на тепловой шок и что эти данные могут вызвать интерес к дальнейшим исследованиям, необходимым для понимания возрастных изменений механизмов реакции на стресс [15].

Неврологические подходы. Ухудшение когнитивных функций связано с возрастом. В исследовании, направленном на описание когнитивного старения,

ния у данио-рерио в возрасте одного, двух и трех лет, использовались различные двигательные тесты для оценки адаптационных способностей рыб при воздействии пространственных, временных и визуальных сигналов. Было установлено, что в среднем рыбы в двух старших группах преодолевали более короткие расстояния и с меньшей скоростью по сравнению с годовалой группой [34].

3.3. Методы инициирования старения

Генетически модифицированные модели. Генетически модифицированные данио-рерио становятся все более привлекательными благодаря успехам генетических манипуляций и относительно короткому времени генерации. Создание трансгенных моделей данио-рерио может помочь в изучении влияния различных генов на процесс старения и продолжительность жизни в целом. Данные некоторых исследователей показали, что фенотип старения во время эмбриогенеза у данио-рерио связан с клеточным старением и старением у других организмов [22]. Эти же исследователи также создали пул из трехсот шести мутантных данио-рерио, созданных с помощью инсерционного мутагенеза.

Другое исследование с использованием той же модели рыб показало, что отключение теломеразы у данио-рерио снижает продолжительность жизни на 70%. У этих же рыб произошли радикальные изменения в желудочно-кишечном тракте, и за счет стимуляции экспрессии тканеспецифической теломеразы в кишечнике целостность тканей была восстановлена. Простимулированная таким экспрессия теломеразы также замедлила старение кишечника и увеличила продолжительность жизни рыб на 40% [7].

Ген *klotho* привлекает внимание из-за его связи со старением и сокращением продолжительности жизни. Модели нокаута α *klotho* у грызунов показали ускоренное старение. Нокаутные модели того же гена у данио-рерио до недавнего времени не изучались. Исследователи обнаружили, что данио-рерио с нокаутом α *klotho* выглядели нормальными к трехмесячному возрасту, но переживали преждевременную смерть и доживали только до девятимесячного возраста [17]. Аналогичное исследование показало, что к пятидесятилетнему возрасту у этих рыб начались резкие поведенческие и дегенеративные физические изменения. Гистопатологический анализ этих рыб показал некроз участков эпидермиса и дермы, кальцификацию кровеносных сосудов в скелетных мышцах, фиброз, инфильтрацию иммунных клеток, а также другие формы кальцификации и воспаления [24]. Эти данные позволяют предположить, что α *klotho* регулирует продолжительность жизни данио-рерио и может быть использован для изучения процесса старения.

Старение, вызываемое окислительным стрессом. Считается, что окислительный стресс вызывает

старение из-за повреждения различных белков и липидов. Фактически, индуцирование окислительного стресса у данио-рерио служит моделью старения. Наиболее распространенным окислителем, используемым в моделях для генерации АФКи, как следствие, старения, является H_2O_2 . Старение данио-рерио, подвергшихся воздействию окислителя, исследовали по экспрессии тех или иных генов с помощью ПЦР, а также изучали с использованием методов обнаружения АФК. Было обнаружено, что после обработки перекисью водорода у личинок данио наблюдались фенотипы, связанные со старением, характеризующиеся более высокой активностью β -галактозидазы, значительно сниженной экспрессией сиртуина 1 и теломеразы по сравнению с контрольной группой. Предварительная обработка антиоксидантом тетрагидроксистильтбенглюкозидом (ТСГ) личинок данио задержала процесс старения, вызванный окислительным стрессом, что подтверждено снижением уровня активности β -галактозидазы и улучшением скорости плавания. Дальнейшие исследования показали, что ТСГ может подавлять выработку активных форм кислорода и повышать активность антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и каталазы. ТСГ также ингибировал индуцированную H_2O_2 экспрессию связанных с воспалением генов и не влиял на гены, связанные с апоптозом у состаренных данио-рерио [30].

Радиационное старение. Данио-рерио могут подвергаться различным формам облучения, вызывающим повреждение ДНК. Ультрафиолетовое и гамма-излучение являются легкодоступными методами радиационно-индуцированного старения. Ультрафиолетовое излучение вызывает повреждение ДНК и является одной из частых причин старения кожи у людей. Поэтому многие исследования были сосредоточены на влиянии воздействия ультрафиолета на повреждение ДНК. Эта модель также использовалась для изучения защитного действия лекарств и других веществ против индуцированной УФ выработки АФК и гибели клеток [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хотя типичные исследовательские модели *in vivo* для изучения старения основаны на моделях грызунов, данио-рерио представляет собой многообещающую модель и инструмент для понимания патологий, возрастных процессов и их механизмов. Большой опыт исследований патологий человека на моделях, основанных на данио-рерио, достоверные биомаркеры и другие методы исследования старения, а также разработка различных моделей старения, позволяют надеяться, что модели с использованием данио-рерио могут быть перспективными для испытания геропротективных препаратов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы) (№ 122030100170-5).

ЛИТЕРАТУРА

1. ABOU-DAHECH M.S., WILLIAMS F.E. Aging, Age-Related Diseases, and the Zebrafish Model. *J Dement Alzheimer's Dis.*, 2024. N1(1). P. 48–71. DOI: 10.3390/jdad1010004
2. ASAKAWA K., HANDA H., KAWAKAMI K. Illuminating ALS Motor Neurons With Optogenetics in Zebrafish. *Front Cell Dev Biol.*, 2021. N9, 640414. DOI: 10.3389/fcell.2021.640414
3. BERNADOTTE A., MIKHELSON V.M., SPIVAK I.M. Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence. *Aging*, 2016. N8(1). P. 3–11. DOI: 10.18632/aging.100871
4. CAI N., WU Y., HUANG Y. Induction of Accelerated Aging in a Mouse Model. *Cells*, 2022. N11(9). P. 1418. DOI: 10.3390/cells11091418
5. CHEN B., ZHENG Y.M., ZHANG J.P. Comparative Study of Different Diets-Induced NAFLD Models of Zebrafish. *Front Endocrinol.*, 2018. N9. P. 366. DOI: 10.3389/fendo.2018.00366
6. DINDAY M.T., BARABAN S.C. Large-Scale Phenotype-Based Antiepileptic Drug Screening in a Zebrafish Model of Dravet Syndrome. *eNeuro*, 2015. N2(4), ENEURO.0068-15.2015. DOI: 10.1523/ENEURO.0068-15.2015
7. EL MAÏ M., BIRD M., ALLOUCHE A., TARGEN S., ŞERİFOĞLU N. ET ALL. Gut-specific telomerase expression counteracts systemic aging in telomerase-deficient zebrafish. *Nat Aging*, 2023. N3(5). P. 567–584. DOI: 10.1038/s43587-023-00401-5
8. GERHARD G.S., KAUFFMAN E.J., WANG X., STEWART R., MOORE J.L., KASALES C.J. ET ALL. Life spans and senescent phenotypes in two strains of Zebrafish (*Danio rerio*). *Exp Gerontol.*, 2002. N37(8–9). P. 1055–1068. DOI: 10.1016/s0531-5565(02)00088-8
9. HUA L., YAN D., WAN C., HU B. Nucleolus and Nucleolar Stress: From Cell Fate Decision to Disease Development. *Cells*, 2022. N11(19). P. 3017. DOI: 10.3390/cells11193017
10. KISHI S., UCHIYAMA J., BAUGHMAN A.M., GOTO T., LIN M.C., TSAI S.B. The zebrafish as a vertebrate model of functional aging and very gradual senescence. *Exp Gerontol.*, 2003. N38(7). P. 777–786. DOI: 10.1016/s0531-5565(03)00108-6
11. KOBAR K., COLLETT K., PRYKHOZHII S.V., BERMAN J.N. Zebrafish Cancer Predisposition Models. *Front Cell Dev Biol.*, 2021. N 9. P. 660069. DOI: 10.3389/fcell.2021.660069
12. LIN J., ZHANG W., ZHAO J.J., KWART A.H., YANG C. ET ALL. A clinically relevant in vivo zebrafish model of human multiple myeloma to study preclinical therapeutic efficacy. *Blood*, 2016. N128(2). P. 249–252. DOI: 10.1182/blood-2016-03-704460
13. MCHUGH D., GIL J. Senescence and aging: Causes, consequences, and therapeutic avenues. *J Cell Biol.*, 2018. N217(1). P. 65–77. DOI: 10.1083/jcb.201708092
14. MORENO-GARCÍA A., KUN A., CALERO O., MEDINA M., CALERO M. An Overview of the Role of Lipofuscin in Age-Related Neurodegeneration. *Front Neurosci.* 2018. N 12. P. 464. DOI: 10.3389/fnins.2018.00464.
15. MURTHA J.M., KELLER E.T. Characterization of the heat shock response in mature zebrafish (*Danio rerio*). *Exp Gerontol.* 2003. N38(6). P. 683–691. DOI: 10.1016/s0531-5565(03)00067-6.
16. NARUMANCHI S., WANG H., PERTTUNEN, S., TIKKANEN I., LAKKISTO P., PAAVOLA J. Zebrafish Heart Failure Models. *Front Cell Dev Biol.*, 2021. N9, P. 662583. DOI: 10.3389/fcell.2021.662583.
17. OGURA Y., KANEKO R., UJIBE K., WAKAMATSU Y., HIRATA H. Loss of α klotho causes reduced motor ability and short lifespan in zebrafish. *Sci Rep.*, 2021. N 11(1). P. 15090. DOI: 10.1038/s41598-021-93909-y.
18. POLE A., DIMRI M., DIMRI G.P. Oxidative stress, cellular senescence and ageing. *AIMS Mol Sci.* 2016. N3(3). P. 300–324. DOI: 10.3934/molsci.2016.3.300
19. ROSA J.T., LAIZÉ V., GAVAIA P.J., CANCELA M.L. () Fish Models of Induced Osteoporosis. *Front Cell Dev Biol.*, 2021. N 9. P. 672424. DOI: 10.3389/fcell.2021.672424.
20. SALEEM S., KANNAN R.R. Zebrafish: an emerging real-time model system to study Alzheimer's disease and neurospecific drug discovery. *Cell Death Discov.* 2018. N4. P. 45. DOI: 10.1038/s41420-018-0109-7.
21. SALEHPOUR A., REZAEI M., KHORADMEHR A., TAHAMTANI Y., TAMADON A. Which Hyperglycemic Model of Zebrafish (*Danio rerio*) Suites My Type 2 Diabetes Mellitus Research? A Scoring System for Available Methods. *Front Cell Dev Biol.*, 2021. N9. P. 652061. DOI: 10.3389/fcell.2021.652061.
22. SASAKI T., KISHI S. Molecular and chemical genetic approaches to developmental origins of aging and disease in zebrafish. *Biochim Biophys Acta*, 2013. N1832(9). P. 1362–1370. DOI: 10.1016/j.bbadis.2013.04.030.
23. SILVA N.V., CARREGOSA D., GONÇALVES C., VIEIRA O.V., NUNES DOS SANTOS C., ET ALL. A Dietary Cholesterol-Based Intestinal Inflammation Assay for Improving Drug-Discovery on Inflammatory Bowel Diseases. *Front Cell Dev Biol.*, 2021. N9. P. 674749. DOI: 10.3389/fcell.2021.674749.
24. SINGH A.P., SOSA M.X., FANG J., SHANMUKHAPPA S.K., HUBAUD A., FAWCETT C.H. ET ALL. α Klotho Regulates Age-Associated Vascular Calcification and Lifespan in Zebrafish. *Cell Rep.* 2019. N 28(11). P. 2767–2776.e5. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.08.013

25. STEIN G.H., DULIĆ V. Origins of G1 arrest in senescent human fibroblasts. *BioEssays*, 1995. N 17(6). P. 537–543. DOI: 10.1002/bies.950170610.
26. TAN J.X., FINKEL T. Lysosomes in senescence and aging. *EMBO Rep.*, 2023. N24(11), e57265. DOI: 10.15252/embr.202357265
27. TANG D., GENG F., YU C., ZHANG R. Recent Application of Zebrafish Models in Atherosclerosis Research. *Front Cell Dev Biol.* 2021. N9. P. 643–697. DOI: 10.3389/fcell.2021.643697.
28. VASILEIOU P.V.S., EVANGELOU K., VLASIS K., FILDISIS G., PANAYIOTIDIS M.I. ET ALL. Mitochondrial Homeostasis and Cellular Senescence. *Cells*, 2019. N8(7). P. 686. DOI: 10.3390/cells8070686.
29. WEINTRAUB A. All eyes on zebrafish. *Lab Anim.* 2017. N46(8). P. 323–326. DOI: 10.1038/labani.1321.
30. XIA H., CHENG X., CAO M., SUN X., HE F. ET ALL. Tetrahydroxystilbene Glucoside Attenuates Oxidative Stress-Induced Aging by Regulating Oxidation Resistance and Inflammation in Larval Zebrafish. *Zebrafish*, 2023. N20(2). P. 55–66. DOI: 10.1089/zeb.2022.0045.
31. XIE Y., MEIJER A.H., SCHAAF M.J.M. Modeling Inflammation in Zebrafish for the Development of Anti-inflammatory Drugs. *Front Cell Dev Biol.* 2021. N8. P. 620984. DOI: 10.3389/fcell.2020.620984
32. YANG H.M., HAM Y.M., YOON W.J., ROH S.W., JEON Y.J. ET ALL. Quercitrin protects against ultraviolet B-induced cell death in vitro and in an in vivo zebrafish model. *J Photochem Photobiol B.* 2012. N114. P. 126–131. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2012.05.020
33. YOUSEFZADEH M.J., SCHAFER M.J., NOREN HOOTEN N., ATKINSON E.J. ET ALL. Circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 as a potential measure of biological age in mice and frailty in humans. *Aging Cell.* 2018. N17(2), e12706. DOI: 10.1111/accel.12706.
34. YU L., TUCCI V., KISHI S., ZHDANOVA I.V. Cognitive aging in zebrafish. *PLOS One*, 2006. N1(1), e14. DOI: 10.1371/journal.pone.0000014.
35. ZANG L., TORRACA V., SHIMADA Y., NISHIMURA N. Editorial: Zebrafish Models for Human Disease Studies. *Front Cell Dev Biol.*, 2022. N10. P. 861–941. DOI: 10.3389/fcell.2022.861941
- marker of cellular senescence. *Aging*. 2016;8;(1):3–11. DOI: 10.18632/aging.100871
4. CAI N., WU Y., HUANG Y. Induction of Accelerated Aging in a Mouse Model. *Cells*. 2022;11;(9):1418. DOI: 10.3390/cells11091418
5. CHEN B., ZHENG Y.M., ZHANG J.P. Comparative Study of Different Diets-Induced NAFLD Models of Zebrafish. *Front Endocrinol.*, 2018;9:366. DOI: 10.3389/fendo.2018.00366
6. DINDAY M.T., BARABAN S.C. Large-Scale Phenotype-Based Antiepileptic Drug Screening in a Zebrafish Model of Dravet Syndrome. *eNeuro*, 2015;2;(4), ENEURO.0068-15.2015. DOI: 10.1523/ENEURO.0068-15.2015
7. EL MAÏ M., BIRD M., ALLOUCHE A., TARGEN S., ŞERİFOĞLU N. ET ALL. Gut-specific telomerase expression counteracts systemic aging in telomerase-deficient zebrafish. *Nat Aging*, 2023;3;(5):567–584. DOI: 10.1038/s43587-023-00401-5
8. GERHARD G.S., KAUFFMAN E.J., WANG X., STEWART R., MOORE J.L., KASALES C.J. ET ALL. Life spans and senescent phenotypes in two strains of Zebrafish (*Danio rerio*). *Exp Gerontol.*, 2002;37;(8–9):1055–1068. DOI: 10.1016/s0531-5565(02)00088-8
9. HUA L., YAN D., WAN C., HU B. Nucleolus and Nucleolar Stress: From Cell Fate Decision to Disease Development. *Cells*, 2022;11;(19):3017. DOI: 10.3390/cells11193017
10. KISHI S., UCHIYAMA J., BAUGHMAN A.M., GOTO T., LIN M.C., TSAI S.B. The zebrafish as a vertebrate model of functional aging and very gradual senescence. *Exp Gerontol.*, 2003;38;(7):777–786. DOI: 10.1016/s0531-5565(03)00108-6
11. KOBAR K., COLLETT K., PRYKHOZHII S.V., BERMAN J.N. Zebrafish Cancer Predisposition Models. *Front Cell Dev Biol.*, 2021;9:660069. DOI: 10.3389/fcell.2021.660069
12. LIN J., ZHANG W., ZHAO J.J., KWART A.H., YANG C. ET ALL. A clinically relevant in vivo zebrafish model of human multiple myeloma to study preclinical therapeutic efficacy. *Blood*, 2016;128;(2):249–252. DOI: 10.1182/blood-2016-03-704460
13. MCHUGH D., GIL J. Senescence and aging: Causes, consequences, and therapeutic avenues. *J Cell Biol.*, 2018;217;(1):65–77. DOI: 10.1083/jcb.201708092
14. MORENO-GARCÍA A., KUN A., CALERO O., MEDINA M., CALERO M. An Overview of the Role of Lipofuscin in Age-Related Neurodegeneration. *Front Neurosci.* 2018;12:464. DOI: 10.3389/fnins.2018.00464.
15. MURTHA J.M., KELLER E.T. Characterization of the heat shock response in mature zebrafish (*Danio rerio*). *Exp Gerontol.* 2003;38;(6):683–691. DOI: 10.1016/s0531-5565(03)00067-6.
16. NARUMANCHI S., WANG H., PERTTUNEN S., TIKKANEN I., LAKKISTO P., PAAVOLA J. Zebrafish Heart Failure Models. *Front Cell Dev Biol.*

REFERENCES

1. ABOU-DAHECH M.S., WILLIAMS F.E. Aging, Age-Related Diseases, and the Zebrafish Model. *J Dement Alzheimer's Dis.*, 2024;1;(1):48–71. DOI: 10.3390/jdad1010004
2. ASAKAWA K., HANDA H., KAWAKAMI K. Illuminating ALS Motor Neurons With Optogenetics in Zebrafish. *Front Cell Dev Biol.*, 2021;9:640414. DOI: 10.3389/fcell.2021.640414
3. BERNADOTTE A., MIKHELSON V.M., SPIVAK I.M. Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a

- 2021;9:662583. DOI: 10.3389/fcell.2021.662583.
17. OGURA Y., KANEKO R., UJIBE K., WAKAMATSU Y., HIRATA H. Loss of α klotho causes reduced motor ability and short lifespan in zebrafish. *Sci Rep.*, 2021;11;(1):15090. DOI: 10.1038/s41598-021-93909-y.
 18. POLE A., DIMRI M., DIMRI G.P. Oxidative stress, cellular senescence and ageing. *AIMS Mol Sci.* 2016;3;(3):300–324. DOI: 10.3934/molsci.2016.3.300
 19. ROSAJ.T., LAIZÉ V., GAVAIAP.J., CANCELAM.L. () Fish Models of Induced Osteoporosis. *Front Cell Dev Biol.*, 2021;9:672424. DOI: 10.3389/fcell.2021.672424.
 20. SALEEM S., KANNAN R.R. Zebrafish: an emerging real-time model system to study Alzheimer's disease and neurospecific drug discovery. *Cell Death Discov.* 2018;4:45. DOI: 10.1038/s41420-018-0109-7.
 21. SALEHPOUR A., REZAEI M., KHORADMEHR A., TAHAMTANI Y., TAMADON A. Which Hyperglycemic Model of Zebrafish (*Danio rerio*) Suites My Type 2 Diabetes Mellitus Research? A Scoring System for Available Methods. *Front Cell Dev Biol.*, 2021;9:652061. DOI: 10.3389/fcell.2021.652061.
 22. SASAKI T., KISHI S. Molecular and chemical genetic approaches to developmental origins of aging and disease in zebrafish. *Biochim Biophys Acta*, 2013;1832;(9):1362–1370. DOI: 10.1016/j.bbdis.2013.04.030.
 23. SILVA N.V., CARREGOSA D., GONÇALVES C., VIEIRA O.V., NUNES DOS SANTOS C., ET ALL. A Dietary Cholesterol-Based Intestinal Inflammation Assay for Improving Drug-Discovery on Inflammatory Bowel Diseases. *Front Cell Dev Biol.*, 2021;9:674749. DOI: 10.3389/fcell.2021.674749.
 24. SINGH A.P., SOSA M.X., FANG J., SHANMUKHAPPA S.K., HUBAUD A., FAWCETT C.H. ET ALL. α Klotho Regulates Age-Associated Vascular Calcification and Lifespan in Zebrafish. *Cell Rep.* 2019;28;(11):2767–2776.e5. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.08.013
 25. STEIN G.H., DULIĆ V. Origins of G1 arrest in senescent human fibroblasts. *BioEssays*, 1995. N 17(6). P. 537–543. DOI: 10.1002/bies.950170610.
 26. TAN J.X., FINKEL T. Lysosomes in senescence and aging. *EMBO Rep.*, 2023;24;(11), e57265. DOI: 10.15252/embr.202357265
 27. TANG D., GENG F., YU C., ZHANG R. Recent Application of Zebrafish Models in Atherosclerosis Research. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:643–697. DOI: 10.3389/fcell.2021.643697.
 28. VASILEIOU P.V.S., EVANGELOU K., VLASIS K., FILDISIS G., PANAYIOTIDIS M.I. ET ALL. Mitochondrial Homeostasis and Cellular Senescence. *Cells*, 2019; 8;(7):686. DOI: 10.3390/cells8070686.
 29. WEINTRAUB A. All eyes on zebrafish. *Lab Anim.* 2017; 46;(8):323–326. DOI: 10.1038/labani.1321.
 30. XIA H., CHENG X., CAO M., SUN X., HE F., ET ALL. Tetrahydroxystilbene Glucoside Attenuates Oxidative Stress-Induced Aging by Regulating Oxidation Resistance and Inflammation in Larval Zebrafish. *Zebrafish*, 2023;20;(2):55–66. DOI: 10.1089/zeb.2022.0045.
 31. XIE Y., MEIJER A.H., SCHAAF M.J.M. Modeling Inflammation in Zebrafish for the Development of Anti-inflammatory Drugs. *Front Cell Dev Biol.* 2021;8:620984. DOI: 10.3389/fcell.2020.620984
 32. YANG H.M., HAM Y.M., YOON W.J., ROH S.W., JEON Y.J. ET ALL. Quercitrin protects against ultraviolet B-induced cell death in vitro and in an in vivo zebrafish model. *J Photochem Photobiol B.* 2012.;114: 126–131. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2012.05.020
 33. YOUSEFZADEH M.J., SCHAFER M.J., NOREN HOOTEN N., ATKINSON E.J. ET ALL. Circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 as a potential measure of biological age in mice and frailty in humans. *Aging Cell.* 2018;17(2), e12706. DOI: 10.1111/acel.12706.
 34. YU L., TUCCI V., KISHI S., ZHDANOVA I.V. Cognitive aging in zebrafish. *PLOS One*, 2006;1(1), e14. DOI: 10.1371/journal.pone.0000014.
 35. ZANG L., TORRACA V., SHIMADA Y., NISHIMURA N. Editorial: Zebrafish Models for Human Disease Studies. *Front Cell Dev Biol.*, 2022;10:861–941. DOI: 10.3389/fcell.2022.861941

Золотарев Константин Владимирович,
науч. сотр. Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Научно-исследовательский институт
биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»

Бодовев Николай Васильевич,
д.х.н., г.н.с. Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Научно-исследовательский институт
биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»

✉ 119121, г. Москва, улица Погодинская, д. 10 стр. 8,
119121 Moscow, Pogodinskaya str., 10 bldg 8,
e-mail: fireaxe@mail.ru