

ИХТИОЛОГИЯ/ICHTHYOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.155.16>ВИЗУАЛЬНАЯ ШКАЛА ДЛЯ ОЦЕНКИ ЦЕЛОСТНОСТИ ПЛАВНИКОВ РЫБ *NOTHOBRANCHIUS GUENTHERI*

Научная статья

Бахтогаримов И.Р.^{1,*}, Гуватова З.Г.², Булавкина Е.В.³, Володин В.В.⁴, Алипер Г.М.⁵, Гречишкина П.С.⁶, Волков М.Ю.⁷, Гладыш Н.С.⁸, Кудрявцева А.В.⁹¹ ORCID : 0000-0003-0937-313X;² ORCID : 0000-0003-3494-9807;³ ORCID : 0000-0003-0521-7826;⁴ ORCID : 0000-0003-4992-7299;⁵ ORCID : 0009-0003-2711-4737;⁶ ORCID : 0009-0007-6393-888X;⁷ ORCID : 0009-0004-7352-3125;⁸ ORCID : 0000-0002-7844-1960;^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9} Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (bakhtogarimov[at]gmail.com)

Аннотация

Старение остается одной из наиболее серьезных проблем в области биомедицинских наук, в связи с чем сохраняют актуальность поиск и изучение модельных объектов, а также выявление новых биомаркеров старения — динамических параметров организма, отражающих его функциональное состояние в определенный период времени.

Целью данной работы является разработка и тестирование визуальной шкалы для оценки целостности плавников в качестве внешнего биомаркера старения короткоживущих рыб рода *Nothobranchius*. Для создания визуальной шкалы, включающей референсные изображения плавников разной степени целостности, были использованы рыбы *N. guentheri*, содержащиеся в индивидуальных контейнерах системы замкнутого водоснабжения.

В результате исследования была разработана визуальная шкала, которая использовалась для количественной оценки целостности плавников. Предполагается, что описанный морфологический признак может быть использован в качестве биомаркера старения рыб *N. guentheri*.

Материалы работы могут быть полезны для моделирования оценки биологического возраста рыб рода *Nothobranchius*, а также при тестировании на них препаратов, замедляющих старение и способствующих увеличению здоровой продолжительности жизни.

Ключевые слова: *Nothobranchius guentheri*, *Nothobranchius*, модельные животные, маркеры старения, механизмы старения, эрозия плавников, десквамация чешуи, геронтология.

VISUAL SCALE FOR ASSESSING FIN INTEGRITY OF *NOTHOBRANCHIUS GUENTHERI* FISH

Research article

Bakhtogarimov I.R.^{1,*}, Guvatova Z.G.², Bulavkina Y.V.³, Volodin V.V.⁴, Aliper G.M.⁵, Grechishkina P.S.⁶, Volkov M.Y.⁷, Gladyshev N.S.⁸, Kudryavtseva A.V.⁹¹ ORCID : 0000-0003-0937-313X;² ORCID : 0000-0003-3494-9807;³ ORCID : 0000-0003-0521-7826;⁴ ORCID : 0000-0003-4992-7299;⁵ ORCID : 0009-0003-2711-4737;⁶ ORCID : 0009-0007-6393-888X;⁷ ORCID : 0009-0004-7352-3125;⁸ ORCID : 0000-0002-7844-1960;^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9} Engelhardt Institute of Molecular Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

* Corresponding author (bakhtogarimov[at]gmail.com)

Abstract

Ageing remains one of the most serious problems in the field of biomedical sciences, therefore, the search and study of model objects, as well as the identification of new biomarkers of ageing — dynamic parameters of the organism, reflecting its functional state in a certain period of time — remain relevant.

The aim of this work is to develop and test a visual scale for assessing fin integrity as an external biomarker of ageing in short-lived fish of the genus *Nothobranchius*. *N. guentheri* fish kept in individual containers of a closed water system were used to create a visual scale, including reference images of fins of different degrees of integrity.

As a result of the study, a visual scale was developed and used to quantify fin integrity. It is assumed that the described morphological feature can be used as a biomarker of ageing of *N. guentheri* fish.

The materials of the work can be useful for modelling the evaluation of biological age of fish of the genus *Nothobranchius*, as well as for testing on them drugs that slow down ageing and contribute to an increase in healthy life expectancy.

Keywords: *Nothobranchius guentheri*, *Nothobranchius*, model animals, ageing markers, ageing mechanisms, fin erosion, scale desquamation, gerontology.

Введение

Одним из наиболее активно развивающихся направлений в коррекции возраст-ассоциированных патологий является поиск активных молекул, потенциальных геропротекторов — препаратов, способных замедлять старение и увеличивать здоровую продолжительность жизни.

На сегодняшний день в геронтологии, науке о старении организма, уже разработаны критерии потенциальных геропротекторов, ключевым из которых является способность изменять показатели молекулярных, клеточных и физиологических биомаркеров, приближая их к показателям более молодого организма или замедляя прогрессирование возрастных изменений [1], [2]. Однако скорость идентификации геропротекторов остается низкой, что связано с длительностью опытов по оценке продолжительности жизни и необходимостью тестирования большого количества веществ.

В связи с описанными сложностями актуальным является поиск перспективных модельных животных для изучения механизмов старения. Один из таких модельных организмов — рыбы рода *Nothobranchius*. Представители этого рода, относящегося к отряду Карпозубообразных (*Cyprinodontiformes*), характеризуются низкой продолжительностью жизни по сравнению с большинством позвоночных животных, небольшими размерами и удобством содержания в лабораторных условиях. Так, наиболее популярные у исследователей представители рода — *N. furzeri*, *N. rachovii* и *N. guentheri* обладают медианой выживаемости 4, 6 и 12 месяцев соответственно, что позволяет снизить временные и финансовые затраты на эксперименты [3], [4].

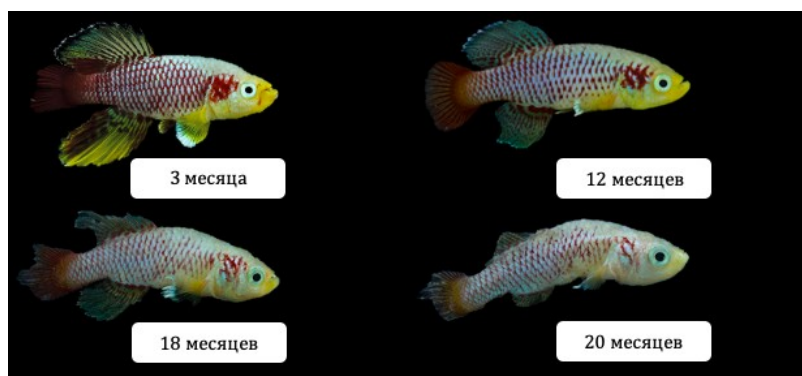


Рисунок 1 - Сравнение выраженности внешних признаков старения (снижение яркости окраски, искривление позвоночника, эрозия плавников, десквамация чешуи) у самцов *Nothobranchius guentheri* разного возраста
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.155.16.1>

Процесс старения Нотобранхиусов имеет общие черты с млекопитающими на молекулярном уровне: укорочением теломера, митохондриальную дисфункцию, прогрессирующую потерю белкового гомеостаза [5], [6]. Сходства имеются и в прогрессировании внешних возрастных изменений. Рыбы рода *Nothobranchius* стареют постепенно и демонстрируют морфологические изменения, повторяющие многие классические признаки старения высших позвоночных: искривление позвоночника, потеря мышечной массы, снижение подвижности, нейродегенерация с сопутствующими признаками когнитивных нарушений, снижение фертильности и регенеративных способностей, дегенеративные изменения покровов [7], [8], [9], [10] (рисунок 1). Стоит отметить, что характерной особенностью старения рыб являются возрастные изменения покровов, проявляющиеся в спонтанном выпадении чешуи (десквамации), утрате яркости окраски и разрушении плавников.

Перечисленные возрастные изменения в той или иной мере являются морфологическими маркерами старения. Однако, чтобы использовать конкретный признак на практике в качестве биомаркера, необходимо разработать и апробировать систему его количественного измерения, а также определить наличие статистически значимой корреляции между степенью выраженности признака и возрастом.

В работе мы рассмотрели такой внешний маркер старения как эрозия плавников, представляющий собой повреждение тканей на плавниках [11]. Среди остальных биомаркеров его выделяет совокупность преимуществ: возможность измерения *in vivo* при помощи фотофиксации, возможность оценки измерения у обоих полов, а также удобство дифференцировки наблюдаемых изменений. Как следствие, становится возможным разработать четкие критерии и создать шкалу изменения признака с возрастом.

В литературе описаны методы измерения степени разрушения плавников рыб. Moutou и соавторы разработали визуальную шкалу (фотографический ключ) для оценки состояния плавников радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) в открытых водоёмах, используемую для мониторинга здоровья особи [12]. После чего Stejskal и соавторы успешно апробировали вышеописанный метод на евразийском окуне (*Perca fluviatilis*) [13].

Таким образом, рыбы рода *Nothobranchius* являются удобной моделью для проведения исследований по оценке действия геропротекторов и определению их влияния на биомаркеры старения и возрастные дегенеративные изменения позвоночных. Однако на данный момент отсутствуют опубликованные визуальные шкалы для оценки выраженности и измерения степени разрушения плавников рыб рода *Nothobranchius*. В связи с чем целью

проведенного исследования стала разработка и апробация визуальной шкалы для оценки степени целостности плавников рыб рода *Nothobranchius*. Полученные результаты могут быть использованы для создания более сложной модели ранжирования выраженности признаков старения на основе цифровых фотографий.

Методы и принципы исследования

Методика визуальной оценки целостности плавников была ранее разработана Moutou и соавторами [13]. В данном исследовании мы адаптировали визуальную шкалу для рыб рода *Nothobranchius*. Фотографический ключ был составлен на основе снимков рыб, сделанных в лаборатории Постгеномных исследований Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (ИМБ РАН).

Рыб содержали в индивидуальных контейнерах установки замкнутого водоснабжения (УЗВ) Aquaneering (Aquaneering, Inc, США). Параметры кормления, водной среды и освещения поддерживались в соответствии с протоколом по содержанию рыб рода *Nothobranchius* [14].

Для разработки шкалы использовали цифровые изображения плавников самцов в возрасте 17–22 месяцев. Были установлены 4 степени эрозии по площади повреждения:

- 1) 0 — отсутствие или минимальная эрозия (<5%);
- 2) 1 — слабая (5–30%);
- 3) 2 — умеренная (31–70%);
- 4) 3 — сильная (>70%).

Каждому плавнику (спинному, хвостовому, анальному и грудным) присваивали балл от 0 до 3 (рисунок 2). Для грудных плавников рассчитывали среднее арифметическое значение. Общий показатель получали путем суммирования баллов всех плавников с последующим делением на их количество.

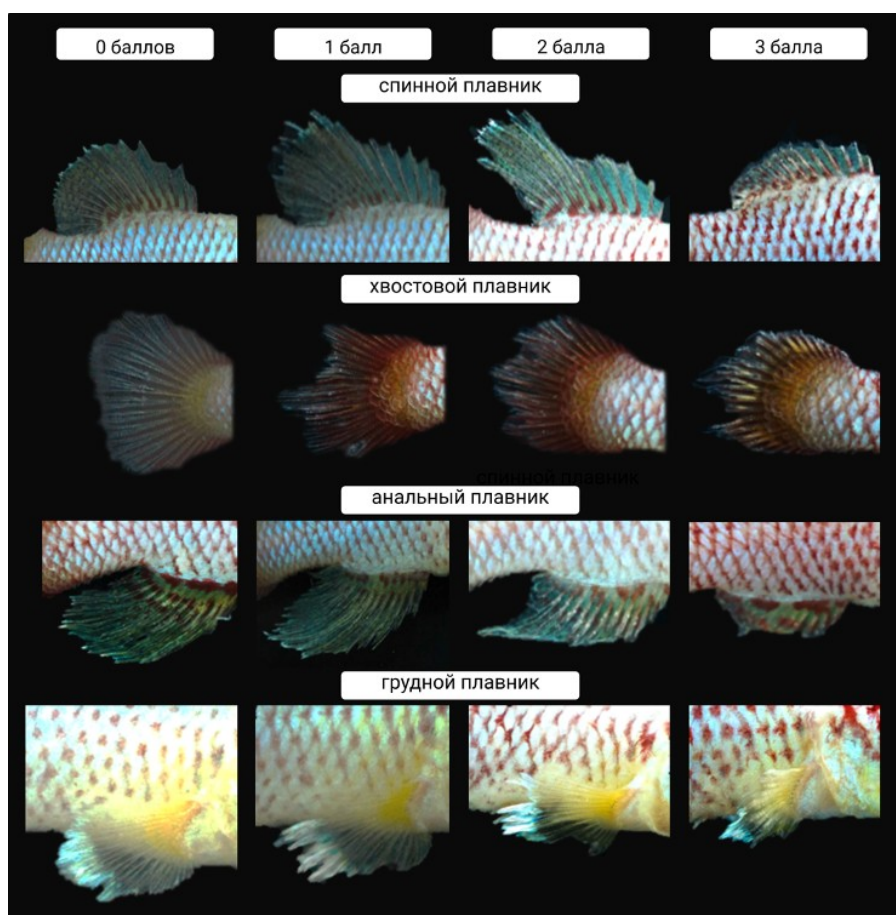


Рисунок 2 - Визуальная шкала для оценки степени эрозии плавников *N. guentheri*
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.155.16.2>

Для валидации шкалы случайным образом было отобрано по 12 особей каждого пола в возрасте 17 месяцев. Оценка состояния плавников проводилась ежемесячно в течение 6 месяцев. Выбор временного интервала обусловлен необходимостью оценки действия геропротекторов на зрелых особях. Полученные данные фиксировали в базе, после чего рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона между баллом эрозии плавников и возрастом рыб.

Основные результаты

Результаты статистического анализа показали наличие зависимости степени разрушения плавников от возраста. Статистически значимая корреляция отмечалась как у самцов, так и у самок ($p < 0,05$). Коэффициент корреляции общего балла степени разрушения плавников с возрастом для самок составил 0,57, для самцов 0,6.

В каждой из шести временных точек среднее значение выраженности признака среди особей линейно увеличивалось у представителей обоих полов, что позволяет предположить возможность использования степени разрушения плавников в качестве биомаркера внешних возрастных изменений у *N. guentheri* (рисунок 3).

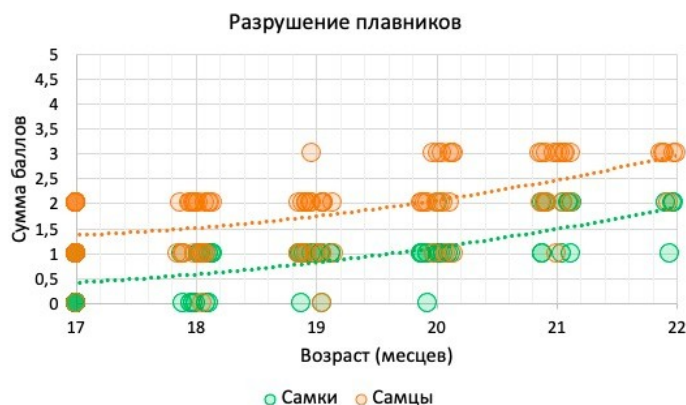


Рисунок 3 - Динамика возрастных изменений плавников *N. guentheri*
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.155.16.3>

Следует отметить, что у самцов наблюдалась более выраженная деградация плавников (средний балл 2,07). Эта особенность объясняется большим развитием и размером плавников у самцов. Литературные данные свидетельствуют, что самцы и самки этих рыб стареют по-разному как на молекулярном, так и на морфологическом уровне.

Обсуждение

Мы предполагаем, что разработанную визуальную шкалу можно использовать для оценки обоих полов, однако прямое сравнение их биологического возраста некорректно из-за особенностей полового диморфизма. Согласно литературным данным, у другого представителя рода — *N. furzeri* — с возрастом значительно снижается способность к восстановлению целостности плавников после повреждения [15], [16].

Предположительно, разрушение плавников при старении может быть связано с возрастным снижением регенеративного потенциала, вызванным иммунным дефицитом и нарушением ангиогенеза. Процесс усугубляется при недостатке витаминов группы В и микроэлементов.

Результаты исследований показывают, что различия в регенеративной способности плавников у молодых и старых особей обусловлены повышенной пролиферативной активностью клеток у молодых животных. С возрастом нарушаются регенеративные процессы, а также происходит деградация коллагеновых волокон, из которых преимущественно состоят плавники рыб. Подобные изменения в эпидермисе и дерме приводят к нарушению целостности покровов. Биологические механизмы этого явления носят многофакторный характер и требуют дополнительных исследований [16]. Аналогичные процессы были описаны у другого модельного объекта — *D. rerio* [17].

Заключение

Мы предполагаем, что адаптированная нами шкала оценки целостности плавников может быть использована в качестве внешнего биомаркера старения и оценки действия потенциальных геропротекторов на рыбах *N. guentheri* и других представителях рода. Оценку целостности плавников можно автоматизировать, применив машинное обучение, что также повысит точность оценки и сведёт к минимуму «ошибку оператора».

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

- Wendler S. Age-dependent decline in fin regenerative capacity in the short-lived fish *Nothobranchius furzeri* / S. Wendler // *Aging Cell*. — 2015. — № 4. DOI: 10.1111/accel.12367.
- Moskalev A. Developing criteria for evaluation of geroprotectors as a key stage toward translation to the clinic / A. Moskalev // *Aging Cell*. — 2016. — № 3. — P. 407–415. DOI: 10.1111/accel.12463.
- Lee Y. Dietary resveratrol increases mid-life fecundity of female *Nothobranchius guentheri* / Y. Lee // *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* — 2018. — № 208. — P. 71–76. DOI: 10.1016/j.cbpc.2017.10.006.
- Terzibasi E. Large Differences in Aging Phenotype between Strains of the Short-Lived Annual Fish *Nothobranchius furzeri* / E. Terzibasi // *PLoS One*. — 2008. — № 12. DOI: 10.1371/journal.pone.0003866.

5. Kelmer Sacramento E. Reduced proteasome activity in the aging brain results in ribosome stoichiometry loss and aggregation / E. Kelmer Sacramento // Mol. Syst. Biol. — 2020. — № 6. DOI: 10.15252/msb.20209596.
6. Reichard M. Lifespan and telomere length variation across populations of wild-derived African killifish / M. Reichard // Mol. Ecol. — 2022. — № 23. — P. 5979–5992. DOI: 10.1111/mec.16287.
7. Genade T. Annual fishes of the genus *Nothobranchius* as a model system for aging research / T. Genade // Aging Cell. — 2005. — № 5. — P. 223–233. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2005.00165.x.
8. Valenzano D. Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate / D. Valenzano // Curr. Biol. Curr Biol. — 2006. — № 3. — P. 296–300. DOI: 10.1016/j.cub.2005.12.038.
9. Valenzano D. The African Turquoise Killifish Genome Provides Insights into Evolution and Genetic Architecture of Lifespan / D. Valenzano // Cell. — 2015. — № 6. — P. 1539–1554. DOI: 10.1016/j.cell.2015.11.008.
10. Api M. Breeders Age Affects Reproductive Success in *Nothobranchius furzeri* / M. Api // Zebrafish. — 2018. — № 6. — P. 546–557. DOI: 10.1089/zeb.2018.1631.
11. Ellis T. Fin Erosion in Farmed Fish / T. Ellis. — Bristol : Blackwell Publishing, 2008. — 121 p. — URL: https://www.researchgate.net/publication/228028605_Fin_Erosion_in_Farmed_Fish (accessed: 30.03.25). DOI: 10.1002/9780470697610.ch9.
12. Moutou K. The effect of ration level and social rank on the development of fin damage in juvenile rainbow trout / K. Moutou // Fish Biol. — 1998. — № 4. — P. 756–770. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1998.tb00818.x.
13. Vlastimil S. Fin condition in intensively cultured Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) / S. Vlastimil // Institute of Vertebrate Biology, Czech Academy of Sciences. — 2011. — № 2. — P. 122–128. DOI: 10.25225/fozo.v60.i2.a6.2011.
14. Dodzian J. Protocol for Laboratory Housing of Turquoise Killifish (*Nothobranchius furzeri*) / J. Dodzian // Journal of Visualized Experiments. — 2018. — № 134. DOI: 10.3791/57073.
15. Örling J. Impaired fin regeneration and angiogenesis in aged zebrafish and turquoise killifish / J. Örling // Biol. Open. — 2023. — № 4. DOI: 10.1242/bio.059622.
16. Wendler S. Age-dependent decline in fin regenerative capacity in the short-lived fish *Nothobranchius furzeri* / S. Wendler // Aging Cell. — 2015. — № 5. — P. 857–866. DOI: 10.1111/accel.12367.
17. Itou J. Life-long preservation of the regenerative capacity in the fin and heart in zebrafis / J. Itou // Biol. Open. — 2012. — № 8. — P. 739–746. DOI: 10.1242/bio.20121057.