

ماهی گورخری (*Danio rerio*) به عنوان مدل ژنوتوکسیکولوژی

معصومه درویشی^{۱*}، رقیه صفری^۱

*m_darvishi_m71@yahoo.com

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده شیلات و محیط زیست، گرگان، ایران

چکیده

ماهی گورخری به جهت سهولت و هزینه نگهداری پایین، باروری بالا، در دسترس بودن کامل توالی ژنوم، دست کاری راحت، هومولوگ بودن بسیاری از ژن های این ماهی با پستانداران و وجود سویه های جهش یافته این ماهی را در تحقیقات زیست شناسی، پزشکی و ژنتیکی به یک گونه مدل و محبوب تبدیل کرده است. ژنوتوکسیکولوژی علمی است که به مطالعه اثرات آلاینده ها در سطح ژنوم موجودات می پردازد. بررسی های زیادی با استفاده از این مدل جهت ارزیابی عملکرد تولیدمثلی، سیستم های ایمنی و آنتی اکسیدانی در سطح ژنوم صورت گرفته است. این مقاله مروری بر استفاده از این ماهی مدل در مطالعات ژنوتوکسیکولوژی آبزیان دارد که با توجه به ویژگی های ذکر شده می تواند در مسائل پزشکی انسانی نیز مورد توجه قرار گیرد.

کلمات کلیدی: ماهی گورخری، مدل زیستی، ژنوتوکسیکولوژی، تولیدمثل، ایمنی، آنتی اکسیدان.

مقدمه

اکوسیستم‌های آبی همواره با خطر مواجه با انواع آلاینده‌ها مواجه هستند که می‌توانند تعادل اکوسیستم‌ها را به هم زده و از عملکرد درست آن ممانعت به عمل آورند. اکثر آلاینده‌ها توان تجمع زیستی در بدن موجودات زنده را داشته و ضایعات مختلفی را در اندام‌ها ایجاد می‌نمایند. بر اساس منابع علمی تماس با غلظت‌های این آلاینده‌ها در موجودات موجب آسیب‌های بافتی، تغییرات آنزیمی، تغییرات پارامترهای خون‌شناسی، ژنتیکی، رفتاری، تولیدمثلی و حتی مرگ در گونه‌های مختلف می‌گردد (Radhakrishnan and Hemalatha, 2010; Joseph and Raj, 2011; Sassi et al., 2013) که از این تغییرات می‌توان به عنوان نشانگرهای زیستی به منظور بررسی وجود آلاینده‌ها استفاده نمود (Olivera Ribeiro et al., 2002). شدت و مدت این پاسخ‌ها تحت تأثیر غلظت، زمان و گونه مورد مطالعه متفاوت است (Heath, 1995). تغییرات بیوشیمیایی و مولکولی به عنوان اولین تغییرات قابل اندازه‌گیری می‌توانند اطلاعات زیادی در مورد اثرات تحت کشنده مواد تنش‌زا در موجود مورد نظر در اختیار ما قرار دهند (Iwama et al., 1998; Rose et al., 2006). از آنجایی که هدف اولیه سلول‌های زنده حفظ حیات خودشان است، در بدن همواره مکانیسم‌هایی وجود دارد که با تنش و آسیب‌های وارد شده مبارزه، اما اگر شدت این آسیب‌ها بیشتر باشد و مکانیزم ترمیم نتواند آن را بهبود بخشد، موجود زنده به سمت نابودی پیش می‌رود. آسیب DNA اغلب به عنوان سمیت ژنتیکی شناخته می‌شود و مواد ژنوتوکسیک، آن‌هایی هستند که باعث تغییر در مواد ژنتیکی و در نهایت اطلاعات ژنتیکی می‌شوند (Singh et al., 2014). این تغییرات از سطح مولکولی آغاز شده و با افزایش زمان مواجهه به ترتیب تغییرات در سطوح بیوشیمیایی، سلولی، بافت، دستگاه، موجود، جمعیت و اکوسیستم توسعه می‌یابد (جمشیدی، ۱۳۹۱). با توجه به اثرات ژنوتوکسین‌ها بر جوامع انسانی، مطالعات ژنوتوکسیکولوژی امروزه در دنیا مورد توجه قرار گرفته است و محققین به دنبال تعیین اثرات انواع آلاینده‌ها بر حیوانات مدل می‌باشند تا بتوانند اثرات آن‌ها را به انسان‌ها تعمیم دهند.

ویژگی‌های بیولوژیکی ماهی گورخری

ماهی گورخری با نام علمی (*Danio rerio*) یک گونه کوچک از ماهی‌های استخوانی آب شیرین متعلق به خانواده‌ی Cyprinidae از راسته Cypriniformes، بومی منطقه هیمالیا و ماهی محبوب آکواریوم است که به راحتی می‌تواند در آزمایشگاه نگهداری و پرورش یابد (Mayden et al., 2007). جنس نر و ماده این گونه ماهی از هم جدا و به راحتی قابل تشخیص می‌باشد. جنس ماده دارای بدنی چاق‌تر و برجستگی مشخصی در ناحیه شکم، و جنس نر دارای بدنی دوکی‌شکل است (Spence et al., 2008). با وجود اینکه در طبیعت تخم‌ریزی بیشتر به صورت فصلی اتفاق می‌افتد، معمولاً در شرایط آزمایشگاهی ماده‌ها یکبار در هفته تولیدمثل و ۵۰ تا ۲۰۰ تخمک و یا بیشتر تولید می‌کنند. جنین‌های ماهی گورخری کوچک و توسعه جنینی سریع دارند و طی ۲ الی ۳ ماه به بلوغ جنسی می‌رسند (Detrich et al., 1999). علاوه بر این در حالی که جنین‌های پستانداران در رحم رشد می‌کنند، جنین‌های ماهی گورخری خارج از بدن مادر رشد کرده و به راحتی می‌توانند دست‌کاری شوند. این ماهی‌ها در بازه pH بین ۶/۸ تا ۷/۵ و محدوده دمایی بین ۲۲ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد زندگی می‌کنند (دارابی‌تبار و هدایتی، ۱۳۹۵). ماهی گورخری گونه‌ای است که نور را به تاریکی ترجیح می‌دهد، اما ممکن است در پاسخ به خطر، در مناطق تیره‌تر زیستگاه پنهان شود. بر اساس ویژگی‌های بدن و دهان، این ماهی برای خوردن حشرات کوچک از سطح آب تخصصی عمل می‌کند. درواقع اغلب برای شنا و خوردن غذا در نزدیکی سطح آب یافت می‌شود و همچنین دارای رفتار حرکتی گله‌ای در برابر شکارچیان می‌باشد (Gerlai and Nagahama, 2000).

استفاده از ماهی گورخری به عنوان ارگانیسم مدل

به علت شباهت بالای ژنتیکی، فیزیولوژیکی و فارماکولوژی ماهی گورخری با انسان و همچنین به جهت سهولت و هزینه نگهداری پایین، باروری بالا، در دسترس بودن کامل توالی ژنوم، دست‌کاری راحت، هومولوگ بودن بسیاری از ژن‌های این ماهی با پستانداران و وجود سویه‌های جهش‌یافته، این ماهی در کنار موش تحقیقات زیست‌شناسی، پزشکی و ژنتیکی به یک گونه مدل و محبوب تبدیل شده است (Eisen, 1996; Cerda et al., 1998; Gerlai et al., 2000; Dooley and

Chang و همکاران (۲۰۱۳) پس از یک دوره ۳۰ روزه مواجهه ماهی گورخری با آلاینده بوتاکلر، کاهش باروری را مشاهده نموده و این کاهش را به کاهش سطح پلاسمایی تستوسترون و استرادیول به سبب مهار فعالیت استروئیدوژنری گناد به وسیله بوتاکلر نسبت دادند. در مطالعه‌ی Yu و همکاران (۲۰۱۴) قرار گرفتن طولانی مدت ماهی گورخری در معرض پلی برومینو دی فنیل اتر (PBDEs) موجب تغییر سطح هورمون‌های جنسی پلازما و کاهش تولید تخمک و تغییرات رشد گنادی، همچنین رونویسی ژن‌های مرتبط با مسیر استروئیدوژن شد و با افزایش دوز آلاینده، میزان هورمون استرادیول، بیان ژن‌های CYP19a، گیرنده‌ی استروژنی آلفا و ویتلوژنین به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. از آنجایی که نقش CYP19 در مسیر استروئیدی تبدیل تستوسترون به استرادیول می‌باشد می‌توان دریافت که کاهش غلظت بیان ژن CYP19 می‌تواند کاهش تولید استرادیول در حضور PBDE را توجیه نماید و از آنجایی که رونویسی ژن ویتلوژنین وابسته به غلظت استرادیول است، کاهش غلظت ویتلوژنین در ماده‌ها می‌تواند نتیجه غلظت پایین استرادیول و کاهش بیان گیرنده‌های استروژنی آلفا در نظر گرفته شود.

استروئیدهای جنسی نقش مهمی در تمایز جنسی، بلوغ جنسی و رفتارهای مختلف ماده در رابطه با تولیدمثل بازی می‌کنند (Liley and Stacey, 1983; Devlin and Nagahama, 2002). اختلالات در استروئیدهای جنسی ممکن است تأثیر قابل توجهی بر موفقیت باروری داشته باشد. تغییرات در غلظت استروئید جنسی پلازما ممکن است ناشی از مکانیسم‌های مختلف از جمله اثرات مستقیم بر آنزیم‌های استروئیدوژنیک نظیر آروماتاز یا تغییرات غیرمستقیم مرتبط با حلقه‌های بازخورد تغییر یافته باشد (Fenske and Segner, 2004; Uchida et al., 2004; Mills and Chichester, 2005). آلاینده‌ها در طبیعت عموماً مشابه یا برخلاف هورمون‌ها عمل می‌کنند که در هر دو صورت، تأثیر منفی بر حیات وحش می‌گذارند. مواد آلاینده شبه استروژنی در جنس ماده مانع زرده سازی و در جنس نر به‌عنوان تحریک کننده تولید زرده به شمار می‌آیند. ماهی گورخری بالغ پس از در معرض قرار گرفتن با TBOEF (تیریس ۲- بوتاکسی) اتیل فسفات {افزایش معنی دار غلظت ۱۷- بتا- استرادیول پلازما در هر دو جنس نر و ماده، افزایش

Zon, 2000; Spitsbergen and Kent, 2003; Goldsmith, 2004; Hill et al., 2005). اولین بار Streisinger و همکاران (۱۹۸۱) در ارزیابی اثر ترکیبات شیمیایی و مواد طبیعی بر تقسیم و تمایز سلولی ماهی گورخری را به‌عنوان یک مدل ژنتیکی گزارش نمودند. مطالعات زیادی با استفاده از این مدل جهت ارزیابی عملکرد تولیدمثلی در محور هیپوتالاموس، هیپوفیز و گناد (Chang et al., 2013; Yu et al., 2014; Teng et al., 2018) سیستم‌های ایمنی (Dong et al., 2018) و آنتی اکسیدانی (Qiu et al., 2018) صورت گرفته است.

ماهی گورخری به‌عنوان ارگانسیم مدل در بیان ژن‌های مرتبط با تولیدمثل

در مهره داران تخم‌گذار ویتلوژنیز رویدادی ضروری است که رشد تخمک را از طریق ویتلوژنین قادر می‌سازد. سنتر ویتلوژنین به‌طور طبیعی به تنظیم استرادیول وابسته به تنظیم گیرنده‌ی استروژنی آلفا ($ER\alpha$) در کبد جنس ماده مرتبط است (Bowman et al., 2002; Lange et al., 2003; Davis et al., 2008). بیان ژن‌های ویتلوژنین وابسته به مرحله رسیدگی جنسی و نوع بافت می‌باشد (Marin and Matozzo, 2004; Kobayashi et al., 2005; Henry et al., 2009) و رویدادهایی که بر ویتلوژنیز اثر می‌گذارند می‌توانند موفقیت کلی تولیدمثل را تحت تأثیر قرار دهند (Zhang et al., 2008). ویتلوژنین در کبد یک پروتئین پیش ماده تخمک است که در ماده‌ها بیان می‌شود و معمولاً نمی‌تواند توسط نرها بیان شود، اما در حضور مواد شیمیایی تخریب کننده غدد درون ریز استروژنی (EDC)، بیان ژن‌های دخیل در سیکل تولیدمثلی از جمله ویتلوژنین می‌تواند در نرها القا شود که در این صورت می‌تواند به‌عنوان نشانگر مولکولی به جهت تشخیص مواد استروژنیک استفاده شود (Marin and Matozzo, 2004; Thomas et al., 2007; Ankley et al., 2008; Park et al., 2010). از مزایای ویتلوژنین به‌عنوان نشانگر فعالیت استروژنی مواد شیمیایی، خصوصیات حساسیت و میزان پاسخ القایی آن می‌باشد (Hutchinson et al., 2005) که برای اندازه گیری میزان آن از دو تکنیک ELISA و RT-PCR استفاده می‌شود (Segner, 2009).

تستوسترون تنها در جنس نر، تغییرات بیان ژنهای محور HPG، کاهش تولید متوسط تخمک و همچنین کاهش میزان موفقیت و بقا در فرزندان می شود. مجموع این نتایج نشان می دهد که TBOEF در نهایت می تواند منجر به اختلال در عملکرد تولیدمثل و توسعه نسل در ماهی گورخری شود (Lee et al., 2018).

Teng و همکاران در سال (۲۰۱۸) مشاهده کردند که قرار گرفتن در معرض دیفنوکونازول باعث تغییرات قابل ملاحظه در شاخص سمیت و تغییرات پاتولوژیک در بافت ها و سطوح هورمون استروئیدی در ماهی گورخری می شود. آزمایش های مولکولی تأیید کرد که دیفنوکونازول به طور قابل توجهی موجب تحریک بیان *cyp19a*, *hsd11b*, *hsd3b*, *lhr* در تخمدان و *star*, *cyp3c1* در بیضه و ژنهای *ERα* در مجاری ادرار می شود. همچنین نتایج تحقیق Liu و همکاران (۲۰۱۸) نشان می دهد که *Microcystis aeruginosa* می تواند عملکرد غدد درون ریز ماهی گورخری ماده را با اختلال در رونویسی ژنهای مربوط به محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد-کبد (HPGL) تغییر دهد و باعث کاهش قابلیت تولیدمثلی شود.

ماهی گورخری به عنوان ارگانیسم مدل در بیان ژنهای ایمنی

ایمنی سازوکار مهم فیزیولوژیکی حیوانات برای محافظت در برابر عفونت ها و تأمین تعادل و هموستاز داخلی است. ایمنی ممکن است به صورت غیراختصاصی و یا اکتسابی باشد. ماهی ها به علت قرار گرفتن در رده های پایین تکامل جانوری، بیشتر وابسته به ایمنی ذاتی می باشند. سیستم ایمنی ذاتی مهم ترین بخش در سیستم دفاعی ماهی و از دو بخش مهم ایمنی همورال و سلولی تشکیل شده است. ایمنی همورال از دو بخش اختصاصی (کمپلمات، لکتین، لیزوزیم و ترانسفرین) و غیراختصاصی (ایمونوگلوبین ها) تشکیل شده است (Biller-Takahashi and Urbinati, 2014). پاسخ التهابی به واسطه سایتوکین می باشد که بخش مهمی از پاسخ ایمنی سلولی در ماهی است (Whyte, 2007). TNF-alfa (فاکتور نکروزکننده تومور) و IL-1 از سایتوکین های مهم مکانیسم دفاعی میزبان در پاسخ به استقرار و یا حمله پاتوژن ها هستند (Scapigliati et al., 2011) که به طور عمده توسط

ماکروفاژهای فعال شده تولید می شوند، هرچند که می تواند توسط بسیاری از انواع سلول های دیگر مانند لنفوسیت ها، سلول های NK، نوتروفیل، ماست سل ها، ائوزینوفیل ها و سلول های عصبی تولید شوند. نقش اصلی TNF در تنظیم سلول های ایمنی است که از نظر ساختاری، پروتئین های مرتبط، محلول و یا متصل به غشاء می باشند (Gruss, 1996). این مولکول ها به طور عمده در اعمال تنظیم سلولی مانند از بین بردن سلول های تومور هنگام پاسخ های ایمنی و التهابی بوده و به دنبال تحریک سیستم ایمنی از گلبول های سفید ترشح می شود که نقش اصلی آن در ایمنی است اما نقش های جانبی دیگری هم ایفا می کند (Aoki et al., 2008). بررسی شاخص های ایمنی ماهی ممکن است به عنوان فاکتورهای مؤثری در مطالعات اثرات آلاینده ها در نظر گرفته شود. در مطالعه ی Akshata و همکاران (۲۰۰۷) عملکرد کلی سیستم ایمنی بدن ماهی گورخری پس از مواجهه با آرسنیک، در غلظت هایی که در آب آشامیدنی یافت می شود، کاهش یافت و حداکثر بیان سایتوکین های ضروری پس از مواجهه با آرسنیک به تأخیر افتاد. بیسفنل S (BPS) و بیسفنل F (BPF) در جنین های ماهی گورخری منجر به تحت تأثیر قرار دادن بیان ژن های مربوط به ایمنی حتی در غلظت های پایین (۱ میلی گرم بر لیتر) شدند که این نتایج نشان می دهد که BPS و BPF ممکن است خطر بزرگی برای اکوسیستم و سلامت انسان به همراه داشته باشند (Qiu et al., 2018). مطالعه اثرات سم تیفلولازامید در ماهی گورخری نیز اثرات منفی در ساختار و عملکرد آنزیم میتوکندریایی را نشان داد که این ممکن است منجر به اختلال در عملکرد ژن های مرتبط با آپتوزیز و ایمنی شود (Yang et al., 2016). همچنین Xu و همکاران (۲۰۱۳) اثر مواجهه ماهی گورخری را با بیسفنل -A و نونیل فنل بررسی و کاهش بیان ژن های مربوط به پاسخ ایمنی از جمله *IL*, *IL 1b*, *Mx*, *TNFa*, *CC-chemokine* 10, *IFNg* و *TNFa* تحت تأثیر مواجهه با این مواد تخریب کننده را مشاهده نمودند. کاهش قابل توجه بیان ژن های *il-1b*, *il-8* و *TNFa* در کبد جنس نر ماهی گورخری و همچنین *il-8* در کبد جنس ماده پس از مواجهه با جیوه در مطالعه ی Chen و همکاران (۲۰۱۷) نشان دهنده مهار فرآیندهای التهابی می باشد.

ماهی گورخری به عنوان ارگانسیم مدل در بیان ژن های آنتی اکسیدانی

تغییرات در سطوح بیوشیمیایی معمولاً اولین پاسخ قابل تشخیص برای بروز اختلالات زیست محیطی است که می تواند اطلاعاتی در مورد اثرات سلولی فاکتورهای استرس در یک گونه خاص ایجاد کند و می تواند به عنوان بیومارکرهای حساس در مطالعات میدانی برای نظارت بر سلامت ماهیان استفاده شود. در میان بیومارکرهای بیوشیمیایی آن دسته که در رابطه با استرس اکسیداتیو نقش مهم تری را ایفا می کنند، اغلب در نظارت محیط زیست مورد استفاده قرار می گیرند (Safari, 2016). اندازه گیری میزان آنزیم های آنتی اکسیدانی در مطالعات مختلف به عنوان یکی از راه های ارزیابی اثرات آلاینده ها بوده (Varo et al., 2009; Jin et al., 2010) که این ارزیابی در سطح ژنتیکی و پروتئینی می تواند به درک بهتر اثرات فیزیولوژیکی و سلولی آلاینده ها در محیط کمک کند. سمیت اکسیداتیو منجر به شکل گیری اکسی رادیکال ها می گردد (Winzer et al, 2001). تولید رادیکال های آزاد توسط سموم منجر به تغییر در سیستم آنتی اکسیدانی سلول و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می شود (Saulsbury et al., 2009). سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون پراکسیدازها (GPOXs) از آنزیم های کلیدی در مسیر آنتی اکسیدانی، به عنوان اولین خطوط دفاعی در مقابل استرس های اکسیداتیو عمل می نمایند (Jo et al., 2008). ژن های مرتبط با آنتی اکسیدان در ماهی ممکن است برای مبارزه با عفونت القا شود (Liu et al., 2010). باین وجود، کاهش قابل توجه در بیان ژن در لاروهای ماهی گورخری پس از مواجهه والدین با بیس فنول ها، نشان دهنده اثر مهارکنندگی بیس فنل در دفاع آنتی اکسیدانی و تأیید این امر می باشد (Dong et al., 2018). استفاده از ماهی گورخری در مطالعه صفری و همکاران (۱۳۹۶) افزایش بیان ژن های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در کبد ماهیان زبرا در مواجهه با کلرید کادمیوم در روزهای اولیه و سپس کاهش بیان این ژن ها را نشان داد که نشان دهنده پاسخ آنزیم های آنتی اکسیدانی به فلزات سنگین به عنوان یکی از سریع ترین پاسخ ها به استرس محیطی می باشد (Hansen et al., 2006). این پاسخ دوگانه افزایش - کاهشی به آلاینده ها، علاوه بر عواملی مانند غلظت و مدت زمان قرار گرفتن در معرض آلاینده می تواند به گونه

ماهی بستگی داشته باشد (Jia et al., 2011; Wang and Gallagher, 2013). در مطالعه Zheng و همکاران (۲۰۱۶) افزایش کاتالاز را علت کاهش آسیب اکسیداتیو در تخمدان عنوان نمودند. هنگامی که سیستم کاتالاز-سوپر اکسید دیسموتاز، قادر به حذف بیش از حد ROS نباشد، خطر افزایش آسیب اکسیداتیو وجود دارد که می تواند منجر به کاهش فعالیت آنزیم و یا حتی تجزیه آنزیم ها شود (Zheng et al., 2016). Zhang و همکاران (۲۰۱۶) از جنین های ماهی گورخری برای بررسی اثر مواجهه کلرید کادمیوم در مطالعه خود استفاده کردند و افزایش فعالیت کاتالاز را در لاروهای ماهی مشاهده، در صورتی که فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز تحت تأثیر قرار نگرفته بود. مواجهه جنین های ماهی گورخری با BPS و BPF نیز منجر به افزایش وابسته به غلظت ROS، فعالیت TAOC، SOD، LPO و تولید NO و iNOS و ایجاد استرس اکسیداتیو شد (Qiu et al., 2018).

مانولالدهید یک محصول مهم پراکسیداسیون لیپید است و محتوای آن به عنوان شاخصی از استرس اکسیداتیو موجود در ارگانسیم ها استفاده شده است. قرار گرفتن ماهی های گورخری در معرض جیوه منجر به افزایش میزان مانولالدهید در کبد در جنس نر شد که نشان دهنده افزایش سطح پراکسیداسیون لیپید و آسیب اکسیداتیو در کبد این ماهیان می باشد. در حالی که افزایش معنی داری در سطح مانولالدهید در ماده ها مشاهده نشد. همچنین کاهش فعالیت کاتالاز و بیان ژن آن و افزایش میزان گلوکاتایون اس ترانسفرازو بیان ژن های گلوکاتایون اس ترانسفراز، گلوکاتایون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و Keap1 در جنس ماده و کاهش بیان کاتالاز، افزایش فعالیت GSH و GST، و تحت تأثیر قرار گرفتن میزان بیان ژن های gpx1a، gstr، nrf2 و Keap1 در جنس نر مشاهده شد (Chen et al., 2017). با اینکه مکانیسم دقیق واکنش های جنسیتی هنوز مشخص نشده است، اما این تفاوت ها در جنس نر و ماده ممکن است مربوط به تفاوت های فیزیولوژیک آنها باشد (Vahter et al., 2007; Abdelouahab et al., 2008; Grotto et al., 2010).

با توجه به ویژگی های ماهی گورخری و در نظر گرفتن این گونه به عنوان ارگانسیم مدل برای مطالعات اثرات آلاینده ها بر وضعیت ایمنی شناسی، تولیدمثل و آنتی اکسیدانی، نتایج به دست آمده در ماهی گورخری می تواند به دیگر گونه های

منابع

- Biller- Takahashi, J.D. and Urbinati, E.C., 2014. Fish Immunology. The modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. Anais da Academia Brasileira de Ciencias, 83, 1484- 1506.
- Bowman, C.J., Kroll, K.J., Gross, T.G. and Denslow, N.D., 2002. Estradiol-induced geneexpression in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Molecular and Cellular Endocrinology, 196, 67-77.
- Cerda, J., Conrad, M., Markl, J., Brand, M. and Herrmann, H., 1998. Zebrafish vimentin: molecular characterisation, assembly properties and developmental expression. European Journal of Cell Biology, 77, 175-187.
- Chen, Q.L., Sun, Y.L., Liu, Z.H. and Li, Y.W., 2017. Sex-dependent effects of subacute mercuric chloride exposure on histology, antioxidant status and immune-related gene expression in the liver of adult zebrafish (*Danio rerio*). Chemosphere, 188, 1-9.
- Chang, J., Liu, S., Zhou, S., Wang, M. and Zhu, G., 2013. Effects of butachlor on reproduction and hormone levels in adult zebrafish (*Danio rerio*). Experimental and Toxicologic Pathology, 65, 205-209.
- Davis, L.K., Pierce, A.L., Hiramatsu, N., Sullivan, C.V., Hirano, T. and Grau, E.G., 2008. Gender-specific expression of multiple estrogen receptors, growth hormonereceptors, insulin-like growth factors and Vtgellogenins, and effects of 17 beta-estradiol in the male ماهی و یا به طور کلی به مهره داران تعمیم داده شود و در مطالعات زیست شناسی، پزشکی و ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرد.
- جمشیدی، ش.، ۱۳۹۱. تأثیر ماده شبه استروژنی نونیل فنل بر بیان mRNA ژن ویتلوژنین به عنوان نشانگر زیستی در تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* نابالغ. رساله دکتری دانشگاه تربیت مدرس. ۱۴۳ ص.
- دارایی تبار، ف. و هدایتی، ع.ا.، ۱۳۹۵. ماهی گورخری (*Danio rerio*)؛ مدل زیستی مطالعات نانو توکسیکولوژی. مجله آبزیان زینتی. شماره ۲. ص ۱۵-۹.
- صفری، ر.، شعبانی، ع.، رمضانپور، س. و واحدی امیری، ف.، ۱۳۹۶. پاسخ های استرس مولدین ماهی زبرا در مواجهه با کلرید کادمیوم در سطح بیان ژن. طرح پژوهشی. شناسه طرح، ۸۹-۳۵۴-۹۵.
- Abdelouahab, N., Mergler, D., Takser, L., Vanier, C., St-Jean, M., Baldwin, M., Spear, P.A. and Chan, H.M., 2008. Gender differences in the effects of organochlorines, mercury, and lead on thyroid hormone levels in lakeside communities of Quebec (Canada). Environmental Research, 107, 380-392.
- Ankley, G.T., Miller, D.H., Jensen, K.M., Villeneuve, D.L. and Martinovic, D., 2008. Relationship of plasma sex steroid concentrations in female fathead minnows to reproductive success and population status. Aquatic Toxicology, 88, 69-74.
- Aoki, T., Takano, T., Santos, M.D., Kondo, H., and Hirono, I., 2008. Molecular innate immunity in teleost fish: review and future perspectives. Fisheries for global welfare and environment, memorial book of the 5th world fisheries congress, pp. 263-276.

- tilapia (*Oreochromis mossambicus*). GenERal and Comparative Endocrinology, 156, 544-551.
- Detrich, W.H., Westerfield, M. and Zon, L.I., editors., 1999.** The zebrafish: biology. Methods in cell biology, pp. 59-60.
- Devlin, R.H. and Nagahama, Y., 2002.** Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. Aquaculture, 208, 191-364.
- Dong, X., Zhang, Z., Meng, S., Pan, C., Yang, M., Wu, X. and Xu, H., 2018.** Parental exposure to bisphenol A and its analogs influences zebrafish offspring immunity. Science of the Total Environment, 610, 291-297.
- Dooley, K. and Zon, L.I., 2000.** Zebrafish: a model system for the study of human disease. Current Opinion in Genetics and Development, 10, 252-256.
- Eisen, J.S., 1996.** Zebrafish make a big splash. Cell, 87, 969-977.
- Fenske, M. and Segner, H., 2004.** Aromatase modulation alters gonadal differentiation in developing zebrafish (*Danio rerio*). Aquatic Toxicology, 67, 105-126.
- Gerlai, R., Lahav, M., Guo, S. and Rosenthal, A., 2000.** Drinks like a fish: zebra fish (*Danio rerio*) as a behavior genetic model to study alcohol effects. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 67, 773-782.
- Goldsmith, P., 2004.** Zebrafish as a pharmacological tool: the how, why, and when. Current Opinion in Pharmacology, 4, 504-512.
- Grotto, D., Valentini, J., Fillion, M., Passos, C.J.S., Garcia, S.C., Mergler, D. and Barbosa, F., 2010.** Mercury exposure and oxidative stress in communities of the Brazilian Amazon. Science of the Total Environment, 408, 806-811.
- Gruss, H.J., 1996.** Molecular, structural, and biological of the tumor necrosis factor ligand superfamily. International Journal of Clinical and Laboratory Research, 26, 143-159.
- Hansen, B.H., Romma, S., Garmo, S.A., Olsvik, P.A. and Andersen, R.A., 2006.** Antioxidative stress proteins and their gene expression in brown trout (*Salmo trutta*) from three rivers with different heavy metal levels. Comparative Biochemistry and Physiology, 143, 263-274.
- Heath, A.G., 1995.** Water pollution and fish physiology. 2nd ed. CRC. Boca Raton, FL, USA. 245 P.
- Henry, T.B., McPherson, J.T., Rogers, E.D., Heah, T.P., Hawkins, S.A., Layton, A.C. and Sayler, G.S., 2009.** Changes in the relative expression pattern of multiple Vtgellogenin genes in adult male and larval zebrafish exposed to exogenous estrogens. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology, 154, 119-126.
- Hill, A.J., Teraoka, H., Heideman, W. and Peterson, R.E., 2005.** Zebrafish as a model vertebrate for investigating

- chemical toxicity. *Toxicological Sciences*, 86, 6–19.
- Hutchinson, T., Ankley, G.T., Segner, H. and Tyler, C.R., 2005.** Screening and testing for endocrine disruption in fish—biomarkers as “signposts” not “traffic lights” in risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 114, 106–114.
- Iwama, G.K., Thomas, P.T., Forsyth, R.B. and Vijaian, M.M., 1998.** Heat shock protein expression in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 8, 35–56.
- Jia, X., Zhang, H. and Liu, X., 2011.** Low levels of admium exposure induce DNA damage and oxidative stress in liver of Oujiang colored carp (*Cyprinus carpio*) var color. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37, 97–103.
- Jin, Y., Zhang, X., Shu, L., Chen, L., Sun, L., Qian, H., Liu, W. and Fu, Zh., 2010.** Oxidative stress response and gene expression with atrazine exposure in adult female zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 78, 846–852.
- Jo, P.G., Choi, Y.K. and Choi, Ch.Y., 2008.** Cloning and mRNA expression of antioxidant enzymes in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* in response to cadmium exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 147, 460–469.
- Joseph, B. and Raj, S.J., 2011.** Impact of pesticide toxicity on selected biomarkers in fishes. *International Journal of Zoological Research*, 7, 212–220.
- Kobayashi, K., Tamotsu, S., Yasuda, K. and Oishi, T., 2005.** Vtgellogenin immune histochemistry in the exposed to 17b-estradiol and p-nonyl phenol liver the testis of the medaka *Oryzias latipes*. *Zoological Science*, 22.
- Lange, I.G., Hartel, A., Meyer, H.H., 2003.** Evolution of oestrogen functions in vertebrates. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 83: 219–226.
- Lee, J., Park, N.Y., Kho, Y., Ji, K., 2018.** Effects of 4-Hydroxyphenyl 4-Isopropoxyphenylsulfone (BPSIP) Exposure on Reproduction and Endocrine System of Zebrafish. *Environmental Science & Technology*, 52: 1506–1513.
- Liley, N.R., Stacey, N.E., 1983.** Hormones, pheromones, and reproductive behavior in fish. *Fish Physiology*, 9: 1–63.
- Liu, G., Ke, M., Fan, X., Zhang, M., Zhu, Y., Lu, T., Qian, H., 2018.** Reproductive and endocrine-disrupting toxicity of *Microcystis aeruginosa* in female zebrafish. *Chemosphere*, 192: 289–296.
- Liu, H.P., Chen, F.Y., Gopalakrishnan, S., Qiao, K., Bo, J., Wang, K.J., 2010.** Antioxidant enzymes from the crab *Scylla paramamosain*: gene cloning and gene/protein expression profiles against LPS challenge. *Fish Shellfish Immunol*, 28: 862–871.
- Marin, M.G., Matozzo, V., 2004.** Vtgellogenin induction as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic environments. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 435–439.
- Mills, L., Chichester, C., 2005.** Review of evidence: are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment

- impacting fish populations? *Science of the Total Environment*, 343: 1-34.
- Oliveira Ribeiro, C.A., Belger, L., Pelletier, E. and Rouleau, C., 2002.** Histopathological evidence of inorganic mercury and methylmercury toxicity in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environmental Research*, 90, 217-225.
- Park, C.B., Aoki, J., Lee, J.S., Nagae, M., Lee, Y.D., Sakakura, Y., Hagiwara, A. and Soyano, K., 2010.** The effects of 17 β -estradiol on various reproductive parameters in the hermaphrodite fish *Kryptolebias marmoratus*. *Aquatic Toxicology*, 96, 273-279.
- Qiu, W., Shao, H., Lei, P., Zheng, C., Qiu, C., Yang, M. and Zheng, Y., 2018.** Immunotoxicity of bisphenol S and F are similar to that of bisphenol A during zebrafish early development. *Chemosphere*, 194, 1-8.
- Radhakrishnan, M.V. and Hemalatha, S., 2010.** Sublethal toxic effects of cadmium chloride to liver of fresh water fish (*Channa striatus*). *American- Eurasian Journal of Toxicological Sciences*, 2, 54-56.
- Rose, W.L., Nisbet, R.M., Green, P.G., Norris, S., Fan, T., Smith, E.H., Cherr, G.N. and Anderson, S.L., 2006.** Using an integrated approach to link biomarker responses and physiological stress to growth impairment of cadmium-exposed larval topmelt. *Aquatic Toxicology*, 80, 298-308.
- Safari, R., 2016.** Toxic effects of Cadmium on antioxidant defense systems and lipid peroxidation in *Acipenser persicus* (Borodin, 1897). *International Journal of Aquatic Biology*, 3, 425-432.
- Sassi, A., Darias, M.J., Said, K., Messaoudi, I. and Gisbert, E., 2013.** Cadmium exposure affects the expression of genes involved in skeletogenesis and stress response in gilthead sea bream larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 39, 649-659.
- Saulsbury, M.D., Heyliger, S.O., Wang, K. and Johnson, D.J., 2009.** Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. *Toxicology*, 259, 1-9.
- Scapigliati, G., Buonocore, F., Bird, S., Zou, J., Pelegrian, P. and Falasca, C., 2011.** Phylogeny of cytokines: molecular cloning and expression analysis of sea bass *Dicentrarchus labrax* interleukin-1 beta. *Fish and Shellfish Immunology*, 11, 711-726.
- Segner, H., 2009.** Zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism for investigating endocrine disruption. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 149, 187-195.
- Singh, P., Singh, I.N., Kumar, S. and Gupta, R., 2014.** Developmental Genotoxicology and genotoxicity testing guidelines: an overview on erythromycin genotoxicity. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 2, 1348.
- Spence, R., Gerlach, G., Lawrence, C. and Smith, C., 2008.** The behavior and ecology of the Zebra fish, *Danio rerio*. *Biological Reviews*, 83, 13-34.

- Spitsbergen, J.M. and Kent, M.L., 2003. The state of the art of the zebrafish model for toxicology and toxicopathology research—advantages and current limitations. *Toxicologic Pathology*, 31, 62–87.
- Streisinger, G., Walker, C., Dower, N., Knauber, D. and Singer, F., 1981. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Nature*, 291 (5813), 293.
- Teng, M., Qi, S., Zhu, W., Wang, Y., Wang, D., Dong, K. and Wang, C., 2018. Effects of the bioconcentration and parental transfer of environmentally relevant concentrations of difenoconazole on endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, 233, 208-217.
- Thomas, P., Tubbs, C., Berg, H. and Dressing, G., 2007. Sex steroid hormone receptors in fish ovaries. In *The Fish Oocyte*, pp. 203-223.
- Uchida, D., Yamashita, M., Kitano, T. and Iguchi, T., 2004. An aromatase inhibitor or high water temp ER α ture induce oocyte apoptosis and depletion of P450 aromatase acti Vtgy in the gonads of genetic female zebrafish during sex-reversal. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 137, 11-20.
- Vahter, M., Åkesson, A., Lid_en, C., Ceccatelli, S. and Berglund, M., 2007. Gender differences in the disposition and toxicity of metals. *Environmental Ressearch*, 104, 85-95.
- Varo, I., Serrano, R., Pitarch, E., Amat, F., Lopez, F.J. and Navarro, J.C., 2009. Bioaccumulation of chlorpyrifos through an experimental food chain: study of protein hsp70 as biomarker of sublethal stress in fish. *Archive Environmental Contamianant Toxicology*, 42, 229-235.
- Wang, L. and Gallagher, E.P., 2013. Role of Nrf2 antioxidant defense in mitigating cadmium-induced oxidative stress in the olfactory system of zebrafish. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 266(2), 177-186.
- Whyte, S.K., 2007. The innate immune response of finfish-a review of current knowledge. *Fish and Shellfish Immunology*, 23, 1127-1151.
- Winzer, K., Winston, G.W., Becker, W., Van Noorden, C.J. and Köehler, A., 2001. Sex-related responses to oxidative stress in primary cultured hepatocytes of European flounder (*Platichthys flesus* L.). *Aquatic Toxicology*, 52, 143-155.
- Xu, H., Yang, M., Qiu, W., Pan, C. and Wu, M., 2013. The impact of endocrine-disrupting chemicals on oxidative stress and innate immune response in zebrafish embryos. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32, 1793-1799.
- Yang, Y., Qi, S., Wang, D., Wang, K., Zhu, L., Chai, T. and Wang, C., 2016. Toxic effects of thifluzamide on zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Hazardous Materials*, 307, 127-136.
- Yu, L., Liu, C., Chen, Q. and Zhou, B., 2014. Endocrine disruption and

reproduction impairment in zebrafish after long-term exposure to DE-71. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33, 1354-1362.

Zhang, X., Hecker, M., Park, J., Tompsett, A.R., Newsted, J., Nakayama, K., Jones, P.D., Newsted, J.L., Au, D.W.T., Kong, R.Y.C., Wu, R.S.S. and Giesy, J.P., 2008. Real-time PCR array to study effects of chemicals on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of the Japanese medaka. *Aquatic Toxicology*, 88, 173-182.

Zhang, Q.F., Li, Y.W., Liu, Z.H. and Chen, Q.L., 2016. Exposure to mercuric chloride induces developmental damage, oxidative stress and immunotoxicity in zebrafish embryos-larvae. *Aquatic Toxicology*, 181, 76-85.

Zheng, J.L., Yuan, S.S., Wu, C.W. and Lv, Z.M., 2016. Acute exposure to waterborne cadmium induced oxidative stress and immunotoxicity in the brain, ovary and liver of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 180, 36-44.

Zebrafish (*Danio rerio*) As a genotoxicology model

Darvishi M.^{1*}; Safari R.¹

* m_darvishi_m71@yahoo.com

1- Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Abstract

Zebrafish as a model in geno toxicology The easiness and low cost of maintenance, high fertility, complete availability of genome sequencing, convenient manipulation, homologation of many genes of zebra fish with mammals and the presence of mutant strains of this fish has changed this species to a popular fish in biology, medical and genetic research. Geno toxicology is a science that studies the effects of pollutants on the genome level of organisms. Many studies have been done using this model to evaluate reproductive performance, immune systems and antioxidants at the genome level. This paper reviews the use of this model fish in aquatic geno toxicology studies, which can be considered in human medical issues.

Keywords: Zebra fish, Bio model, Genotoxicology, Reproduction, Immunity, Antioxidants.