ماهی گورخری (*Danio rerio*) به‌عنوان مدل ژنوتوکسیکولوژی

معصومه درویشی[۱*]، رقیه صفری[۱]

* m_darvishi_m71@yahoo.com

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

چکیده

ماهی گورخری 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 را در تحقیقات زیست‌شناسی، پزشکی و ژنتیکی به یک‌گونه مدل و محبوب تبدیل کرده است. ژنوتوکسیکولوژی علمی است که به مطالعه اثرات آلاینده‌ها در سطح ژنوم موجودات می‌پردازد. بررسی‌های زیادی با استفاده از این مدل جهت ارزیابی عملکرد تولیدمثلی، سیستم‌های ایمنی و آنتی‌اکسیدانی در سطح ژنوم صورت گرفته است. این مقاله مروری بر استفاده از این ماهی مدل در مطالعات ژنوتوکسیکولوژی آبزیان دارد که با توجه به ویژگی‌های ذکرشده می‌تواند در مسائل پزشکی انسانی نیز مورد توجه قرار گیرد.

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

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

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 عمل‌آورند . 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 به‌عنوان نشانگرهای زیستی به‌منظور بررسی وجود آلاینده‌ها استفاده نمود (Olivera Ribeiro *et al*., 2002). شدت و مدت این پاسخ‌ها تحت تأثیر غلظت، زمان و گونه موردمطالعه متفاوت است (Heath, 1995). تغییرات بیوشیمیایی و مولکولی به‌عنوان اولین تغییرات قابل‌اندازه‌گیری می‌توانند اطلاعات زیادی در مورد اثرات تحت کشنده مواد تنش‌زا در موجود موردنظر در اختیار ما قرار دهند (Iwama *et al*., 1998; Rose *et al*., 2006). از آنجایی‌که 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 به‌عنوان سمیت ژنتیکی شناخته می‌شود و مواد ژنوتوکسیک، آن‌هایی هستند که باعث تغییر در مواد ژنتیکی و درنهایت اطلاعات ژنتیکی می‌شوند (Singh *et al*., 2014). این تغییرات از سطح مولکولی آغازشده و با افزایش زمان مواجهه به‌ترتیب تغییرات در سطوح بیوشیمیایی، سلولی، بافت، دستگاه، موجود، جمعیت و اکوسیستم توسعه می‌یابد (جمشیدی، ۱۳۹۱). با توجه به اثرات ژنو توکسین‌ها بر جوامع انسانی، مطالعات ژنوتوکسیکولوژی امروزه در دنیا موردتوجه قرارگرفته است و محققین به‌دنبال 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*) یک‌گونه کوچک از ماهی‌های استخوانی آب شیرین متعلق به خانواده‌ی Cyprinidae از راسته Cypriniformes، بومی منطقه هیمالیا و ماهی محبوب آکواریوم است که به‌راحتی می‌تواند در آزمایشگاه نگهداری و پرورش یابد (Mayden *et al*., 2007). جنس نر و ماده این‌گونه ماهی از هم جدا و به‌راحتی قابل‌تشخیص می‌باشد. جنس ماده دارای بدنی چاق‌تر و برجستگی مشخصی در ناحیه شکم، و جنس نر دارای بدنی دوکی‌شکل است (Spence *et al*., 2008). باوجود اینکه در طبیعت تخم‌ریزی بیشتر به‌صورت 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 درحالی‌که جنین‌های پستانداران در رحم رشد می‌کنند، جنین‌های ماهی گورخری خارج از بدن مادر رشد کرده و به‌راحتی 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 به‌عنوان 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 یک‌گونه مدل و محبوب تبدیل شده است (Eisen, 1996; Cerda *et al*., 1998; Gerlai *et al*., 2000; Dooley and

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

Zon, 2000; Spitsbergen and Kent, 2003; Goldsmith, 2004; Hill *et al.*, 2005). اولین بار Streisinger و همکاران (۱۹81) 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 آنتی‌اکسیدانی (Qiu *et al.*, 2018) صورت گرفته است.

ماهی گورخری به‌عنوان ارگانیسم مدل در بیان ژن‌های مرتبط با تولیدمثل

در مهره‌داران تخم‌گذار ویتلوژنزیز رویدادی ضروری است که رشد تخمک را از طریق ویتلوژنین قادر می‌سازد. سنتز 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 ویتلوژنزیز 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 تخریب‌کننده غدد درون‌ریز استروژنی (EDC)، بیان ژن‌های دخیل در سیکل تولیدمثلی ازجمله ویتلوژنین می‌تواند در نرها القا شود که در این صورت می‌تواند به‌عنوان نشانگر مولکولی به‌جهت 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 اندازه‌گیری میزان آن از دو تکنیک ELISA و RT- PCR استفاده می‌شود (Segner, 2009).

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 استروئیدوژنزی گناد به‌وسیله بوتاکلر نسبت دادند. در مطالعه‌ی Yu و همکاران (۲۰۱۴) قرار گرفتن طولانی‌مدت ماهی گورخری در معرض پلی‌برومینو دی فنیل اتر (PBDEs) موجب تغییر سطح هورمون‌های جنسی پلاسما و کاهش تولید تخمک و تغییرات رشد گنادی، همچنین رونویسی ژن‌های مرتبط با مسیر استروئیدوژنز شد و با افزایش دوز آلاینده، میزان هورمون استرادیول، بیان ژن‌های CYP19a، گیرنده‌ی استروژنی آلفا و ویتلوژنین به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت. ازآنجایی‌که 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 ازآنجایی‌که 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 قابل‌توجهی بر موفقیت باروری داشته باشد. تغییرات در غلظت استروئید جنسی پلاسما ممکن است ناشی از مکانیسم‌های مختلف ازجمله اثرات مستقیم بر آنزیم‌های استروئیدوژنیک نظیر آروماتاز یا تغییرات غیرمستقیم مرتبط با حلقه‌های بازخورد تغییریافته 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 حیات‌وحش می‌گذارند. مواد آلاینده شبه استروژنی در جنس ماده مانع زرده سازی و در جنس نر به‌عنوان تحریک‌کننده تولید زرده به شمار می‌آیند. ماهی گورخری بالغ پس از در معرض قرار گرفتن با TBOEF {تریس (۲- بوتاکسی) اتیل فسفات} افزایش معنی‌دار غلظت۱۷- بتا- استرادیول پلاسما در هر دو جنس نر و ماده، افزایش

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

تستوسترون تنها در جنس نر، تغییرات بیان ژن‌های محور HPG، کاهش تولید متوسط تخمک و همچنین کاهش میزان موفقیت و بقا در فرزندان می‌شود. مجموع این نتایج نشان می‌دهد که TBOEF درنهایت می‌تواند 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 قابل‌ملاحظه در شاخص سمیت و تغییرات پاتولوژیک در بافت‌ها و سطوح هورمون استروئیدی در ماهی گورخری می‌شود. آزمایش‌های مولکولی تأیید کرد که دیفنوکونازول به‌طور قابل‌توجهی موجب تحریک بیان lhr، hsd3b، hsd11b، cyp19a در تخمدان و star، cyp19a، cyp3c1 در بیضه و ژن‌های ERα در مجاری ادرار می‌شود. همچنین نتایج تحقیق Liu و همکاران (۲۰۱۸) نشان می‌دهد که *Microcystis aeruginosa* می‌تواند عملکرد غدد درون‌ریز 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 به‌عنوان ارگانیسم مدل در بیان ژن‌های ایمنی

ایمنی سازوکار مهم فیزیولوژیکی حیوانات برای محافظت در برابر عفونت‌ها و تأمین تعادل و هموستاز داخلی است. ایمنی ممکن است به‌صورت غیراختصاصی و یا اکتسابی باشد. ماهی‌ها به علت قرار گرفتن در رده‌های پایین تکامل جانوری، بیشتر وابسته به ایمنی ذاتی می‌باشند. سیستم ایمنی ذاتی مهم‌ترین بخش در سیستم دفاعی ماهی و از دو بخش مهم ایمنی همورال و سلولی تشکیل‌شده است. ایمنی هومورال از دو بخش اختصاصی (کمپلمانت، لکتین، لیزوزیم و ترانسفرین) و غیراختصاصی (ایمنوگلوبین‌ها) تشکیل‌شده است (Biller-Takahashi and Urbinati, 2014). پاسخ التهابی به‌واسطه سایتوکین می‌باشد که بخش مهمی از پاسخ ایمنی سلولی در ماهی است (Whyte, 2007). TNF-alfa (فاکتور نکروزکننده تومور) و IL-1 از سیتوکین‌های مهم مکانیسم دفاعی میزبان در پاسخ به استقرار و یا حمله پاتوژن‌ها هستند (Scapigliati *et al*., 2011) که به‌طور عمده توسط ماکروفاژهای فعال‌شده تولید می‌شوند، هرچند که می‌تواند توسط بسیاری از انواع سلول‌های دیگر مانند لنفوسیت‌ها، سلول‌های NK، نوتروفیل، ماست سل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و سلول‌های عصبی تولید شوند. نقش اصلی TNF در تنظیم سلول‌های ایمنی است که ازنظر ساختاری، پروتئین‌های مرتبط، محلول و یا متصل به غشاء می‌باشند (Gruss, 1996). این مولکول‌ها به‌طور عمده در اعمال تنظیم سلولی مانند از بین بردن سلول‌های تومور هنگام پاسخ‌های ایمنی و التهابی بوده و به دنبال تحریک سیستم ایمنی از گلبول‌های سفید ترشح می‌شود که نقش اصلی آن در ایمنی است اما نقش‌های جانبی دیگری هم ایفا می‌کند (Aoki *et al*., 2008). بررسی شاخص‌های ایمنی ماهی ممکن است به عنوان فاکتورهای مؤثری در مطالعات اثرات آلاینده‌ها در نظر گرفته شود. در مطالعه‌ی Akshata و همکاران (۲۰۰۷) عملکرد کلی سیستم ایمنی بدن ماهی گورخری پس از مواجهه با آرسنیک، در غلظت‌هایی که در آب آشامیدنی یافت می‌شود، کاهش یافت و حداکثر بیان سیتوکین‌های ضروری پس از مواجهه با آرسنیک به تأخیر افتاد. بیسفنل S (BPS) و بیسفنل F (BPF) در جنین‌های ماهی گورخری منجر به تحت تأثیر قرار دادن بیان ژن‌های مربوط به ایمنی حتی در غلظت‌های پایین (۱ میلی-گرم بر لیتر) شدند که این نتایج نشان می‌دهد که BPS و BPF ممکن است خطر بزرگی برای اکوسیستم و سلامت انسان به همراه داشته باشند (Qiu *et al*., 2018). مطالعه اثرات سم تیفولازامید در ماهی گورخری نیز اثرات منفی در ساختار و عملکرد آنزیم میتوکندریایی را نشان داد که این ممکن است منجر به اختلال در عملکرد ژن‌های مرتبط با آپپتوزیز 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 ژن‌های مربوط به پاسخ ایمنی ازجمله CC-chemokin، TNFa، Mx.، IL 1b، IL 10، IFNg و TNFa تحت تأثیر مواجهه با این مواد تخریب‌کننده را مشاهده نمودند. کاهش قابل توجه بیان ژن‌های 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 مطالعه‌ی Chen و همکاران (۲۰۱۷) نشان‌دهنده مهار فرآیندهای التهابی می‌باشد.

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

ماهی گورخری به‌عنوان ارگانیسم مدل در بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی

تغییرات در سطوح بیوشیمیایی معمولاً اولین پاسخ قابل‌تشخیص برای بروز اختلالات زیست‌محیطی است که می‌تواند اطلاعاتی در مورد اثرات سلولی فاکتورهای استرس در یک‌گونه خاص ایجاد کند و می‌تواند به‌عنوان 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 مهم‌تری را ایفا می‌کنند، اغلب در نظارت محیط‌زیست مورداستفاده قرار می‌گیرند (Safari, 2016). اندازه‌گیری میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مطالعات مختلف به‌عنوان یکی از راه‌های ارزیابی اثرات آلاینده‌ها بوده (Varo *et al*., 2009; Jin *et al*., 2010) که این ارزیابی در سطح ژنتیکی و پروتئینی می‌تواند به درک بهتر اثرات فیزیولوژیکی و سلولی آلاینده‌ها در محیط کمک کند. سمیت اکسیداتیو منجر به شکل‌گیری اکسی رادیکال‌ها می‌گردد (Winzer *et al*, 2001). تولید رادیکال‌های آزاد توسط سموم منجر به تغییر در سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شود (Saulsbury *et al*., 2009). سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیدازها (GPOXs) از آنزیم‌های کلیدی در مسیر آنتی‌اکسیدانی، به‌عنوان اولین خطوط دفاعی در مقابل استرس‌های اکسیداتیو عمل می‌نمایند (Jo *et al*., 2008). ژن‌های مرتبط با آنتی‌اکسیدان در ماهی ممکن است برای مبارزه با عفونت القا شود (Liu *et al*., 2010). بااین‌وجود، کاهش قابل‌توجه در بیان ژن در لاروهای ماهی گورخری پس از مواجهه والدین با بیس‌فنول‌ها، نشان‌دهنده اثر مهارکنندگی بیس‌فنل در دفاع آنتی‌اکسیدانی و تأیید این امر می‌باشد (Dong *et al*., 2018). استفاده از ماهی گورخری در مطالعه صفری و همکاران (۱۳۹۶) افزایش بیان ژن‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز در کبد ماهیان زبرا در مواجهه با کلرید کادمیوم در روزهای اولیه و سپس کاهش بیان این ژن‌ها را نشان داد که نشان‌دهنده پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به فلزات سنگین به‌عنوان یکی از سریع‌ترین پاسخ‌ها به استرس محیطی می‌باشد (Hansen *et al*., 2006). این پاسخ دوگانه افزایش- کاهشی به آلاینده‌ها، علاوه بر عواملی مانند غلظت و مدت‌زمان قرار گرفتن در معرض آلاینده می‌تواند 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. هنگامی‌که سیستم کاتالاز_سوپر اکسید دیسموتاز، قادر به حذف بیش‌ازحد ROS نباشد، خطر افزایش آسیب اکسیداتیو وجود دارد که می‌تواند منجر به کاهش فعالیت آنزیم و یا حتی تجزیه آنزیم‌ها شود (Zheng *et al*., 2016). Zhang و همکاران (۲۰۱۶) از جنین‌های ماهی گورخری برای بررسی اثر مواجهه کلرید کادمیوم در مطالعه خود استفاده کردند و افزایش فعالیت کاتالاز را در لاروهای ماهی مشاهده، درصورتی‌که فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز تحت تأثیر قرار نگرفته بود. مواجهه جنین‌های 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 به‌عنوان شاخصی از استرس اکسیداتیو موجود در ارگانیسم‌ها استفاده‌شده است. قرار گرفتن ماهی‌های گورخری در معرض جیوه منجر به افزایش میزان مانولالدهید در کبد در جنس نر شد که نشان‌دهنده افزایش سطح پراکسیداسیون لیپید و آسیب اکسیداتیو در کبد این ماهیان می‌باشد. درحالی‌که افزایش معنی‌داری در سطح مانولالدهید در ماده‌ها مشاهده نشد. همچنین کاهش فعالیت کاتالاز و بیان ژن آن و افزایش میزان گلوتاتیون اس ترانسفرازو بیان ژن‌های گلوتاتیون اس ترانسفراز، گلوتاتیون 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 ژن‌های gpx1a، gstr، nrf2 و Keap1 در جنس نر مشاهده شد (Chen *et al*., 2017). بااینکه مکانیسم دقیق واکنش‌های جنسیتی هنوز مشخص نشده است، اما این تفاوت‌ها در جنس نر و ماده ممکن است مربوط به تفاوت‌های فیزیولوژیک آن‌ها باشد (Vahter *et al*., 2007; Abdelouahab *et al*., 2008; Grotto *et al*., 2010).

با توجه به ویژگی‌های ماهی گورخری و در نظر گرفتن این‌گونه به‌عنوان ارگانیسم مدل برای مطالعات اثرات آلاینده‌ها بر وضعیت ایمنی‌شناسی، تولیدمثل و آنتی‌اکسیدانی، نتایج به‌دست‌آمده در ماهی گورخری می‌تواند به دیگرگونه‌های

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

ماهی و یا به‌طورکلی به مهره‌داران تعمیم داده شود و در مطالعات زیست‌شناسی، پزشکی و ژنتیکی مورداستفاده قرار گیرد.

منابع

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 prespectives. Fisheries for global welfare and environment, memorial book of the 5th world fisheries congress, pp. 263-276.

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

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

tilapia (*Oreochromis mossambicus*). GenERαl 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

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

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 Zeological 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-Isoprooxyphenylsulfone (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 biomarkerof 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

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

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.

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 alpines*). 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 17β-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 topsmelt. Aquatic Toxicology, 80, 298–308.

Safari, R., 2016. Toxic effects of Cadmium on antioxidant defense systems and lipid

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

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 ERα 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.

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

Downloaded from ornamentalaquatics.ir at 6:02 +0330 on Sunday January 20th 2019

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.