

ماهی گورخری (Danio rerio) به عنوان مدل ژنوتوكسیکولوژی

مصطفویه 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 یک گونه مدل و محبوب تبدیل کرده است. ژنوتوكسیکولوژی 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 ژنوتوكسیکولوژی آبزیان دارد که با توجه به ویژگی‌های ذکرشده می‌تواند در مسائل پزشکی انسانی نیز مورد توجه قرار گیرد.

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

مقدمه

ویژگی‌های بیولوژیکی ماهی گورخری ماهی گورخری با نام علمی (*Danio rerio*) یک گونه کوچک از ماهی‌های استخوانی آب شیرین متعلق به خانواده Cypriniformes از راسته Cyprinidae 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) در شرایط آزمایشگاهی ماده‌ها یک‌بار در هفته تولیدمی‌شوند و ۵۰ تا ۲۰۰ تخمک و یا بیشتر تولید می‌کنند. جنین‌های ماهی گورخری کوچک و توسعه جنسی 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 (دارایی‌تبار 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; Cerdá *et al.*, 1998; Gerlai *et al.*, 2000; Dooley and

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، تولیدمیثی، تغییرات آنزیمی، تغییرات پارامترهای خون‌شناسی، ژنتیکی، رفتاری، تولیدمیثی 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 قابل‌اندازه‌گیری می‌توانند اطلاعات زیادی در مورد اثرات تحت کشندۀ مواد تنش‌زا در موجود Iwama *et al.*, 1998; Rose *et al.*, 2006) در اختیار ما قرار دهند (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 ژنتوکسیک، آن‌هایی هستند که باعث تغییر در مواد ژنتیکی و درنهایت 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 ژئو توکسین‌ها بر جوامع انسانی، مطالعات ژنتوکسیکولوژی امروزه در دنیا موردنموده از قرارگرفته است و محققین به دنبال تعیین اثرات آن‌ها بر حیوانات مدل می‌باشند تا بتوانند اثرات آن‌ها را به انسان‌ها تعیین دهند.

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 استروئیدوزنری گناد بهوسیله بوتاکلر نسبت دادند. در مطالعه‌ی Yu و همکاران (۲۰۱۴) قرار گرفتن طولانی مدت ماهی گورخری در معرض پلیبرومینو دی فنیل اتر (PBDEs) موجب تغییر سطح هورمون‌های جنسی پلاسمما و کاهش تولید تخمک و تغییرات رشد گنادی، همچنین رونویسی ژن‌های مرتبط با مسیر استروئیدوزنر شد و با افزایش دوز آلاینده، میزان هورمون استرادیول، بیان ژن‌های CYP19a، گیرنده‌ی استروژنی آلفا و ویتلوزنین 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 PBDE CYP19 می‌تواند کاهش تولید استرادیول در حضور را توجیه نماید و از آنجایی که رونویسی ژن ویتلوزنین وابسته به غلظت استرادیول است، کاهش غلظت ویتلوزنین در ماده‌ها می‌تواند نتیجه غلظت پایین استرادیول و کاهش بیان گیرنده‌های استروژنی آلفا در نظر گرفته شود.

استروئیدهای جنسی نقش مهمی در تمايز جنسی، بلوغ جنسی و رفتارهای مختلف ماده در رابطه با تولیدمثل بازی Liley and Stacey, 1983; Devlin and می‌کنند (Nagahama, 2002). اختلالات در استروئیدهای جنسی ممکن است تأثیر قابل توجهی بر موفقیت باروری داشته باشد. تغییرات در غلظت استروئید جنسی پلاسمما ممکن است ناشی از مکانیسم‌های مختلف از جمله اثرات مستقیم بر آنزیم‌های استروئیدوزنیک نظیر آروماتاز یا تغییرات غیرمستقیم مرتبط با حلقه‌های بازخورد تغییریافته باشد (Fenske and Segner, 2004; Uchida et al., 2004; Mills and Chichestor, 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 تحریک‌کننده تولید زرده به شمار می‌آیند. ماهی گورخری بالغ پس از در معرض قرار گرفتن با TBOEF {تیریس ۲-بوتاکسی) اتیل فسفات} افزایش معنی‌دار غلظت ۱۷- بتا- استرادیول پلاسمما در هر دو جنس نر و ماده، افزایش

۲۵

Zon, 2000; Spitsbergen and Kent, 2003; Goldsmith, 2004; Hill et al., 2005 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 هیپوتalamوس، 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 ویتلوزنیز رویدادی ضروری است که رشد تخمک را از طریق ویتلوزنین قادر می‌سازد. سنتز ویتلوزنین به‌طور طبیعی به تنظیم استرادیول وابسته به تنظیم گیرنده‌ی استروژنی آلفا (ERα) در کبد جنس ماده مرتبط است (Bowman et al., 2002; Lange et al., 2003; Davis et al., 2008 مرحله رسیدگی جنسی و نوع بافت می‌باشد (Marin and Matozzo, 2004; Kobayashi et al., 2005; Henry et al., 2009) و رویدادهایی که بر ویتلوزنیز اثر می‌گذارند می‌توانند موفقیت کلی تولیدمثل را تحت تأثیر قرار دهند (Zhang et al., 2008). ویتلوزنین در کبد یک پروتئین پیش ماده تخمک است که در ماده‌ها بیان می‌شود و عموماً نمی‌تواند توسط نرها بیان شود، اما در حضور مواد شیمیایی تخریب‌کننده غدد درون‌ریز استروژنی (EDC)، بیان ژن‌های دخیل در سیکل تولیدمثلی از جمله ویتلوزنین 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 ویتلوزنین 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 RT-PCR و ELISA استفاده می‌شود (Segner, 2009).

ماکروفازهای فعال شده تولید می‌شوند، هرچند که می‌تواند توسط بسیاری از انواع سلول‌های دیگر مانند لنفوцит‌ها، سلول‌های NK، نوتروفیل، ماست سل‌ها، اوزینوفیل‌ها و سلول‌های عصبی تولید شوند. نقش اصلی TNF در تنظیم سلول‌های ایمنی است که از نظر ساختاری، پروتئین‌های مرتبط، محلول و یا متصل به غشاء می‌باشند (Gruss, 1996). این مولکول‌ها به طور عمده در اعمال تنظیم سلولی مانند از بین بدن سلول‌های تومور هنگام پاسخ‌های ایمنی و التهابی بوده و به دنبال تحیریک 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 یافتد و حداقل 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 آپیتوزیز 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 از جمله TNFa، CC-chemokin IL 1b، Mx، IL 10، IFNg و TNFa تحت تأثیر مواجهه با این مواد تخریب‌کننده را مشاهده نمودند. کاهش قابل توجه بیان ژن‌های TNFa و il-8 و il-1b 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.

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 قابل ملاحظه در شاخص سمتی و تغییرات پاتولوژیک در بافت‌ها و سطوح هورمون استروئیدی در ماهی گورخری می‌شود. آزمایش‌های مولکولی تأیید کرد که دیفنوکونازول به طور قابل توجهی موجب تحریک بیان cyp19a، hsd11b، hsd3b، lhr، star، cyp3c1، cyp19a در بیضه و ژن‌های ER α در مجرای 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 هیبووتالاموس-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 عفونت‌ها و تأمین تعادل و هموستاز داخلی است. ایمنی ممکن است به صورت 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 هوموال و سلولی تشکیل شده است. ایمنی هوموال از دو بخش اختصاصی (کمپلمانت، لکتین، لیزوزیم و ترانسферین) و غیراختصاصی (ایمنوگلوبین‌ها) تشکیل شده است (Biller-*et al.*, 2014). پاسخ التهابی به‌واسطه سایتوکین می‌باشد که بخش مهمی از پاسخ ایمنی سلولی در ماهی است (Takahashi and Urbinati, 2014). Whyte, 2007) از سیتوکین‌های 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).

ماهی بستگی داشته باشد (Jia *et al.*, 2011; Wang and Zheng, 2013). در مطالعه Gallagher و همکاران (2016) افزایش کاتالاز را علت کاهش آسیب اکسیداتیو در تخدمان عنوان نمودند. هنگامی که سیستم کاتالاز-سوپر اکسید دیسموتاز، قادر به حذف بیش از حد ROS نباشد، خطر افزایش آسیب اکسیداتیو وجود دارد که می‌تواند منجر به کاهش فعالیت آنزیم یا حتی تجزیه آنزیمها شود (Zheng *et al.*, 2016). Zhang و همکاران (2016) از جنین‌های 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 جنین‌های ماهی گورخری با BPS و BPF نیز منجر به افزایش وابسته به غلظت ROS، فعالیت TAOC، LPO و SOD و تولید NO و iNOS و ایجاد استرس اکسیداتیو شد (Qiu *et al.*, 2018).

مانولالدھید یک محصول مهم پراکسیداسیون لیپید است و محتوای آن به عنوان شاخصی از استرس اکسیداتیو موجود در ارگانیسم‌ها استفاده شده است. قرار گرفتن ماهی‌های گورخری در معرض جیوه منجر به افزایش میزان مانولالدھید در کبد در جنس نر شد که نشان‌دهنده افزایش سطح پراکسیداسیون لیپید و آسیب اکسیداتیو در کبد این ماهیان می‌باشد. در حالی که افزایش معنی‌داری در سطح مانولالدھید 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 GST و GSH، و تحت تأثیر قرار گرفتن میزان بیان ژن‌های gpx1a, gpxr, nrf2 و Keap1 در جنس نر مشاهده شد (Chen *et al.*, 2017). با اینکه 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 این گونه به عنوان ارگانیسم مدل برای مطالعات اثرات آلاینده‌ها بر وضعیت ایمنی‌شناسی، تولید مثل و آنتی‌اکسیدانی، نتایج به دست آمده در ماهی گورخری می‌تواند به دیگر گونه‌های

ماهی گورخری به عنوان ارگانیسم مدل در بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی

تغییرات در سطوح بیوشیمیایی معمولاً اولین پاسخ قابل تشخیص برای بروز اختلالات زیست‌محیطی است که می‌تواند اطلاعاتی در مورد اثرات سلولی فاکتورهای استرس در یک‌گونه خاص ایجاد کند و می‌تواند 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 مهم‌تری را ایفا می‌کنند، اغلب در نظارات محیط‌زیست مورداستفاده قرار می‌گیرند (Safari, 2016). اندازه‌گیری میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مطالعات مختلف به عنوان 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 سومون منجر به تغییر در سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول و Saulsbury *et al.*, 2009). سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیدازها (GPOXs) از آنزیم‌های کلیدی در مسیر آنتی‌اکسیدانی، به عنوان 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). با این وجود، کاهش قابل توجه 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 به عنوان 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 مدت زمان قرار گرفتن در معرض آلاینده می‌تواند به گونه

- 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 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 توکسیکولوژی. مجله آذربیان زینتی. شماره ۲. ص ۹-۱۵.
- صفری، ر.. شعبانی، ع.. رمضانپور، س. و واحدی امیری، ف.. ۱۳۹۶. پاسخ های استرس مولдин 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-Isoproxyphenylsulfone (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

- 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 topsmelt. *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 Contamiant 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 modelDarvishi 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.