

Л.П. Лебедева, З.Г. Айташева, Б.А. Жумабаева, И.А. Киселев, Д.А. Алибекова

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан
(E-mail: lebedevaleena@gmail.com)

***Danio rerio* как объект исследования в современной биомедицине и биотехнологии**

В последние годы многие исследователи отдают предпочтение небольшой аквариумной рыбке *Danio rerio* в качестве модельного организма для изучения природы клеточных и биохимических механизмов эмбриогенеза, органогенеза, пищеварительных и нейрорегуляторных процессов, регенерации тканей и органов, клеточной пролиферации и др. Благодаря малым размерам, раннему половому созреванию, высокому уровню фертильности и неприхотливости в содержании, *Danio rerio* составляет значительную конкуренцию многим модельным объектам, среди которых лабораторная мышь, *Mus musculus* и пасюк, *Rattus norvegicus*. Уже сейчас тропические рыбки *Danio rerio* широко используются для изучения ряда патологий, таких как развитие раковой опухоли, ожирение, диабет, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания. Экологи и токсикологи также высоко оценили потенциал *Danio rerio* в качестве тест-объекта для оценки как мутагенного, канцерогенного и тератогенного эффекта самих поллютантов, так и физического, химического и биологического состояния водоемов. Кроме того, *Danio rerio* в ближайшее время может заменить многих других модельных организмов, чье использование лимитируется национальными и международными комитетами по биоэтике и биобезопасности. В статье приведен обзор результатов современных исследований в области биомедицины, биотехнологии и генетики с использованием *Danio rerio* в качестве модельного организма.

Ключевые слова: *Danio rerio*, зебрафиш, биомедицина, тест-объект, модельный организм.

Введение

Сорок лет тому назад мало кто мог представить, что небольшая тропическая рыбка, являвшаяся излюбленным объектом аквариумистов-любителей, станет одним из наиболее перспективных и многообещающих животных моделей, несмотря на то, что *Danio rerio* удовлетворяет всем требованиям, выдвигаемым исследователями к модельным организмам: малые размеры, неприхотливость в период ухода, сокращенный во времени жизненный цикл и высокая степень фертильности. Благодаря этим особенностям у *Danio rerio* есть все шансы заменить собой лидеров среди модельных организмов, среди которых лабораторная мышь, *Mus musculus* и серая крыса (пасюк), *Rattus norvegicus*. Хотя эволюционно грызуны гораздо ближе к *Homo sapiens*, чем остальные животные, за исключением приматов, использование грызунов в лабораторных экспериментах все более лимитируется международными и национальными комитетами по биоэтике и биобезопасности. Многие лаборатории вводят запрет на работу с мышами и крысами в связи со сложностями по их содержанию, транспортировке и последующей утилизации.

Помимо этого *Danio rerio* обладает и рядом других преимуществ: как и все представители своего семейства (*Cyprinidae*), аквариумная рыбка способна полностью восстанавливать поврежденные ткани и органы, таким образом становясь незаменимым объектом исследования по изучению механизмов регенерации у человека. Еще одним процессом, изучение которого не может быть в полной мере осуществлено на людях или других млекопитающих, является эмбриогенез. Внутриутробное развитие и ограниченное количество потомства в одном поколении у мышей и крыс делают невозможным проведение целого ряда экспериментов по изучению пролиферации и дифференциации клеток. *Danio rerio* способствует решению и этой задачи, так как способность к наружному оплодотворению, крупная и прозрачная икра в сочетании с простотой и дешевизной выращивания делает эту рыбку незаменимым объектом исследований.

Ученые в наши дни приходят к выводу, что имеющиеся модельные организмы, принадлежащие к разным таксонам, могут быть успешно заменены одним ихтиовидом *Danio rerio*, сочетающим в себе все необходимые основные характеристики.

На сегодняшний день *Danio rerio* используется для исследования возникновения и развития раковых опухолей, ожирения, стресса, диабета, процессов регенерации, сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний, мышечной дистрофии и других серьезных патологий.

Целью данной статьи является обзор достижений как классических, так и современных исследований в области применения полосатого данио в роли модельного организма и тест-объекта.

Биология Danio rerio

Danio rerio принадлежит к отряду *Cypriniformes*, одному из крупнейших таксонов костных рыб. Родиной полосатого данио являются реки и озера Индии и Пакистана. В небольших количествах этот вид встречается в водоемах Бангладеша, Непала и Мьянмы [1].

Средняя длина Данио составляет 2,5 см, однако в некоторых случаях может достигать 6,4 см (рис.). Окраска тела светло-розовая, с отчетливыми темно-синими полосками, идущими параллельно боковой линии. Половой диморфизм выражен незначительно: самки, как правило, чуть крупнее и бледнее самцов. Форма тела тоже различна: если самцы торпедообразны, отличаются более крупными анальными плавниками, пигментированными на концах, то у самок брюшная часть имеет внизу закругленную форму [2].

По типу питания *Danio rerio* относятся к хищникам, их рацион состоит преимущественно из червей, насекомых, их личинок и яиц, пауков и низших ракообразных. Как и у других карповых, у *Danio rerio* отсутствуют зубы и желудок.

В природе Данио размножаются в сезон муссонных дождей. Нерест происходит ранним утром, сразу после восхода солнца. Одновременно несколько самцов начинают преследовать самку, пытаясь привести ее к специальному месту нереста и плавать вокруг нее, образуя при этом маленький круг или восьмерку. Места нереста строятся из частиц растений и почвы.



Рисунок. *Danio rerio* в аквариуме.

Для инициации нереста несколько самцов начинают преследовать самок, пытаясь привести их к нерестилищу, которые состоят из частиц растений и почвы. Когда брачная пара приближается к месту нереста, самец начинает бить хвостом самку по брюшку. Это вызывает выброс яйцеклеток и сперматозоидов.

Интересно, что сразу после вылупления все эмбрионы превращаются в самок. Только через 5–7 недель гонады начинают дифференцироваться. Самцам требуется около 3 месяцев для полового созревания, потому что только на этом этапе семенники полностью сформированы. Пока природа этого явления остается неясна, но многие ученые предполагают, что обеспеченность пищевыми ресурсами и стабильность биоценоза играют ключевую роль в формировании пола. Доказано, что медленно растущие индивиды становятся самцами, а быстрорастущие индивиды — самками.

Как и многие другие виды рыб, *Danio rerio* использует систему боковой линии, чтобы общаться с другими рыбами, избегать врагов и воспринимать изменения в окружающей среде. Даже слабые вибрации, вызванные движениями других организмов, обнаруживаются по боковой линии. Изменение химического состава в воде ощущается обонятельной луковицей [3].

История развития

Первым исследователем *Danio rerio* считается шотландский натуралист, зоолог и путешественник Френсис Гамильтон [4]. В 1822 г. во время службы в Ост-Индской компании, Гамильтон обнаружил *Danio rerio* в водоемах индийского штата Бихар и описал их как «прекрасных рыб» с «несколькими голубыми и серебристыми полосками на боках».

Спустя полвека после Гамильтона, в 1878 г., другой зоолог и пионер ихтиологии Фрэнсис Дэй опубликовал двухтомник под названием «Рыбы Индии», который содержал краткое описание и рисунок *Danio rerio* [5].

В начале XX века эти простые и неприхотливые в размножении и содержании рыбы были успешно интродуцированы в Европе в качестве аквариумных обитателей [6]. Вскоре *Danio rerio*, получивший за свою полосатую окраску английское название «zebrafish», стал чрезвычайно популярным объектом не только для выращивания аквариумистами-любителями, но и для проведения научных экспериментов. Уже в начале 30-х гг. американский эмбриолог и историк науки Джейн Оппенгеймер предположила, что *Danio rerio* может стать идеальным объектом для изучения основ эмбриологии позвоночных. Оппенгеймер удалось показать, что эмбриогенез *Danio rerio* сходен с эмбриогенезом амфибий [7]. Кроме того, Оппенгеймер установила, что гены, отвечающие за формирование спинной оси, практически идентичны у всех хордовых.

В 1934 г. сотрудник Университета Уэйна Чарльз Кризер решил ввести *Danio rerio* как модельный объект для лабораторных работ студентов-эмбриологов, но все его попытки заменить мышей и крыс провалились.

Последующие 30 лет ученые всего мира посвятили изучению влияния солей мочевины и других мутагенов на формирование нервной системы и процессы старения *Danio rerio*, но, к сожалению, объект так и оставался «темной лошадкой» экспериментальной биологии [8, 9].

Изменения начались в конце 1960-х гг., когда Джордж Стрейзингер из Университета Орегона заинтересовался аквариумистикой. Он приобрел несколько «золотых» Данио, одну из первых мутантных линий рыб. Ген, отвечающий за золотой цвет, являлся рецессивным, что определило видимые фенотипические различия между двумя популяциями рыб. Изменяя условия среды, Стрейзингер создал стабильную популяцию *Danio rerio* для проведения индуцированного мутагенеза *in vivo*. В 1981 г. Стрейзингеру удалось получить серию различных чистых линий рыб для анализа роли мутагенных факторов в развитии нервной системы позвоночных [10].

В 1995 г. другие два сотрудника Орегонского университета Чарльз Киммель и Уильям Баллард и их коллеги из Дартмутского колледжа описали 7 стадий эмбриогенеза Данио: зигота, дробление, бластула, гастрюла, сегментация, фарингула и инкубация [11]. Дробление яйца начинается через 40 мин после оплодотворения. Бластомеры расходятся каждые 15 мин. Весь процесс дробления включает 6 этапов, в результате которых эмбрион состоит из 64 клеток. Стадия бластулы длится примерно 3 ч, стадия гастрюлы — 5 ч, стадия фарингулы, во время которой происходит превращение нервной трубки в позвоночник, продолжается 14 ч. В конце сегментации эмбрионы приобретают свойства, характерные для всех позвоночных. Постэмбриональный период включает в себя три стадии: личиночную, ювенильную и взрослую.

Данные и аналогичные исследования позволили детально изучить процесс раннего эмбриогенеза и экстраполировать полученные результаты на эмбрионы человека.

Но чтобы сделать процесс изучения человеческих болезней более эффективным, требовалось найти гомологичные гены. Эта проблема была решена учеными из Сэнгеровского института в 2003 г. В этот период был проведен полногеномный анализ *Danio rerio*. Согласно результатам исследования, геном включает порядка 26 000 генов, 70 % из которых аналогичны генам человека. Чуть позже данная группа авторов опубликовала вторую статью, в которой описаны функции примерно 10 000 генов [12].

Лауреат Нобелевской премии Кристиана Нюссляйн-Фольхард из Тюбингенского университета совместно с коллегами изучала процесс миграции бластоцитов у более чем 4 000 мутантных особей. Авторам удалось определить гены, детерминирующие ранний эмбриогенез человека [13].

*Преимущества *Danio rerio* как модели современных исследований*

Danio rerio обладает миниатюрными размерами и не требует специального оборудования для содержания и разведения. Поддержание популяции *Danio rerio* обходится значительно дешевле, нежели других модельных позвоночных, таких как мыши и крысы.

Самки *Danio rerio* способны откладывать несколько сотен яиц еженедельно. Благодаря своей прозрачности, эмбрионы могут быть использованы для изучения раннего эмбриогенеза млекопитающих, в том числе и человека. С помощью обычного светового микроскопа можно визуально наблюдать за кровеносными сосудами. При этом период в один день развития *Danio* соответствует одному месяцу развития человеческого зародыша. Как и у *Xenopus laevis*, у *Danio rerio* тип оплодотворения наружный. 84 % генов рыбки ассоциированы с заболеваниями человека.

Danio rerio, как и другие представители карповых, способны к полной регенерации клеток, тканей и органов. Изучение генов, вовлеченных в этот процесс, поможет найти в будущем способ эффективного лечения пациентов, перенесших инфаркт, инсульт и ампутацию конечностей.

Разведение аквариумной рыбки

Для поддержания аквариумной рыбки рекомендуется использовать специальные емкости или аквариумы с высотой водной толщи не более 25 см [14]. Минимальная емкость составляет 40 л. В период спаривания самцы и самки иногда переносятся в емкость меньшего размера с высотой водной толщи 10 см. Несмотря на то, что в природе *Danio rerio* легко переносит температурные перепады, температура 28,5 °С широко рекомендуется как оптимальная для разведения данио. Более низкие или высокие температуры могут снизить продолжительность жизни, способность к размножению и количество жизнеспособных эмбрионов.

Также важно осуществлять контроль pH водной среды с помощью колориметрического теста с набором специальных реактивов или высокоточной кондуктометрии. Оптимальный pH подбирается в интервале 5,9–8,1.

Поддержание чистоты аквариума и фильтров для воды являются очень важными для здоровья популяции рыбок. Такая популяция обычно содержится в водоеме со стоячей водой или в проточном танке, в котором смена воды проводится в медленном режиме. В последнем случае вода может быть свежей, приточной или обработанной, рециркулируемой. Стоячий водоем требует постоянной очистки. Высокие концентрации мочевины или нитратов могут приводить к летальному исходу рыб. Так, нитрит, поглощаемый жабрами, понижает способность усваивать кислород. Фильтры и аквариумы должны чиститься по мере визуального загрязнения. Для того, чтобы предотвратить застойные явления, предусмотрен специальный насос. Необходимый уровень растворенного кислорода поддерживается на отметке 6,0 мг/л.

Как многие другие организмы, полосатый данио относится к социальным животным. Рыбки вступают в общение с другими особями своего вида и видами рыб. Агрессивное поведение самцов наблюдается только в нерестовый период и считается для этого отрезка времени нормальным. Доминирующий самец может отгонять остальных самцов и даже кусать их, хотя и обычно безвредно. Остальное время популяция сосуществует мирно [15].

Danio rerio питается сухим кормом. Однако даже коммерческий, высококачественный сухой корм недостаточен для нормальных условий содержания рыбок. Поэтому необходимы некоторые пищевые добавки, включающие замороженные или живые подкормки. Среди наиболее популярных подкормок можно назвать личинки *Artemia nauplii*, *Artemia salina*, *Tubifex tubifex*, *Drosophila melanogaster* и *Daphnia*. Этих мелких рачков и насекомых можно собрать в прудовых хозяйствах, на реках или соленых водоемах. Добавление искусственных растений, камней и других особенностей, имитирующих природные условия обитания «дамского чулка», позволяет рыбкам чувствовать себя комфортно и безопасно [16].

Современные исследования

В настоящее время появилась возможность оценить *Danio rerio* как модельные объекты исследований. Эти рыбки можно легко содержать в лабораторных условиях, они выявляют большое сходство с особенностями развития человека, не требуют сложной аппаратуры или инструментов для своей жизнедеятельности. Отсюда ясно, почему ученые выбрали *Danio rerio* для исследования широко распространенных и тяжелых заболеваний, с которыми человечество сталкивается ежедневно.

Регенерация

На сегодняшний день одним из приоритетных направлений является поиск механизмов, ответственных за восстановление нормальных функций клеток, тканей и органов.

Органы человека в соответствии со своим регенеративным потенциалом делятся на три категории: с высокой восстановительной способностью (кожные покровы, кровь), со средней (костные ткани, печень и скелетные мышцы) и низкой восстанавливаемостью (нервные клетки, клетки сердечной мышцы и конечности) [17]. В этой связи, все дегенеративные процессы, протекающие в органах третьей группы, приводят к развитию серьезных патологий и смерти. После инфаркта, инсульта, ампутации конечностей пациенты вынуждены страдать от негативных последствий до конца жизни.

Однако не только человек не способен к полной регенерации тканей и органов. Некоторые виды анималии и большинство амниот лишены способности восстанавливать утраченные функции. В отличие от них *Danio rerio*, и эмбрионы, и взрослые особи, сохраняют свой регенеративный потенциал и могут успешно восстанавливать как структуру, так и функции сердечных мышц, глаз, плавников и других органов, необходимых для поддержания жизнеспособности.

Регенерация сердечной мышцы

Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения, сердечный приступ занимает одну из лидирующих позиций среди заболеваний. После инфаркта миокарда на месте пораженных кардиомиоцитов происходит формирование рубцовой ткани, которая не способна сокращаться как сердечная мышца.

Было установлено, что внеклеточный матрикс является основным фактором, инициирующим органогенез и регенерацию. Во время эмбриогенеза матрикс запускает процесс пролиферации и созревания всех типов клеток сердечно-сосудистой системы [18]. Ядро внеклеточного матрикса формирует белок фибронектин, который играет роль субстрата для мигрирующих во время регенерации кардиомиоцитов [19].

Вследствие инфаркта наблюдается суперэкспрессия генов, ответственных за синтез фибронектина. У *Danio rerio* при запуске процесса регенерации молекулы фибронектина полностью распадаются. Однако у млекопитающих, в том числе и у людей, механизм деградации этого белка нарушен, что останавливает процесс регенерации и приводит к фиброзу тканей. Изучение экспрессии генов, ответственных за оба процесса — и регенерации и последующего распада фибронектина — помогает понять и контролировать механизмы восстановления кардиомиоцитов млекопитающих.

Регенерация плавников

Под кожными покровами обычно подразумевают целый ряд структур, обладающих покровными и защитными функциями: эпидермис, дерма, подкожно-жировая клетчатка, волосные фолликулы, потовые и сальные железы.

В нормальных условиях процесс заживления ран у млекопитающих обусловлен формированием рубца, который не способен защищать внутренние органы на подобие того, как это делают кожные покровы. *Danio rerio* является идеальным объектом для изучения эпиморфического типа регенерации конечностей, при котором утраченная часть тела восстанавливается с помощью пролиферации недифференцированных стволовых клеток. В отличие от сердечной мышцы, хвостовой плавник лишен собственной мускулатуры. Он представляет собой кожную складку с 16–18 костными лучами, разделенными хрящами [20]. Боковые лучи обычно длиннее остальных, а разница между самым длинным и самым коротким лучами составляет 4 сегмента. Так как рыба увеличивается в размерах в течение всей жизни, плавники также растут по мере добавления новых сегментов к оконечностям лучей.

Показано, что сразу после ампутации плавника область повреждения покрывается раневым эпидермисом из-за миграции непролиферирующих клеток в область раны. На вторые сутки на месте повреждения образуется белая полоса, которая в течение следующих 3–4 дней увеличивается в размерах. Образование бластемы происходит за счет процессов пролиферации и дедифференцировки мезенхимальных клеток под раневым эпидермисом. Бластема подразделяется на проксимальную и дистальную в зависимости от скорости пролиферации и экспрессии генов [21]. Регенеративный рост начинается через 5–6 дней после травматического эффекта, для которого характерна активная пролиферация проксимальных клеток бластемы. Проксимальная часть начинает дифференцироваться в складку плавника и приобретает пигментацию. Примерно по истечении трех недель плавник полностью восстанавливает свои размеры и форму [20].

Регенерация центральной нервной системы (ЦНС)

Головной мозг является незаменимым органом. Любая травма ЦНС приводит к серьезным осложнениям. К факторам, вызывающим необратимые изменения в мозге, относятся бактериальные и вирусные заболевания, перенесенные травмы, кровоизлияния, болезнь Альцгеймера, Паркинсона и др. Согласно отчетам ВОЗ, инсульт занимает лидирующие позиции среди множества болезней и патологий, приводящих к смертельному исходу [22].

Несмотря на то, что проблема регенерации нейронов и восстановления функций ЦНС на сегодняшний день крайне актуальна, до сих пор не существует эффективных стратегий для решения данной задачи. Последние три десятилетия ученые работают над исследованиями по замене погибших нервных клеток недифференцированными стволовыми клетками. Но первично необходимо понять механизмы регенерации среди других видов животных с высокой способностью к восстановлению клеток и тканей. *Danio rerio* является идеальной моделью потому, что у взрослых представителей аксонный транспорт, в том числе при межклеточном перемещении органелл, белков, жиров и углеводов посредством аксонов, функционирует нормально даже после серьезных искусственно вызванных повреждений [23].

У взрослых млекопитающих существует два основных отдела мозга, в которых происходит конститутивный нейрогенез: субгранулярная зона в зубчатой извилине гиппокампа и субвентрикулярная зона боковых желудочков, в которых новые нейроны образуются и мигрируют далее в обонятельную луковицу, чтобы трансформироваться в интернейроны [24]. Ранние исследования показали, что субвентрикулярная зона отвечает за активацию регенеративных процессов после серьезных повреждений головного мозга, производя клетки-предшественники, которые активно делятся и мигрируют к поврежденной области, затем подвергаются дифференцировке и интеграция с имеющимися нервными структурами.

По сравнению с высшими позвоночными, у низших позвоночных в процессе регенерации принимает участие дополнительная зона — теленцефалическая вентрикулярная [25]. Данный участок напоминает субвентрикулярную зону и выполняет те же самые функции. Клетки-предшественники могут в кратчайшие сроки заменить погибшие нейроны. Экспериментами показано, что после искусственного удаления участков мозга у *Danio rerio in vivo* рыбки полностью восстанавливают не только нейроны, но и их нормальные функции [26].

Диабет

Сахарный диабет является заболеванием эндокринной системы, которое возникает вследствие дефицита инсулина и характеризуется нарушениями метаболизма и, в частности, углеводного обмена. При диабете поджелудочная железа теряет способность вырабатывать необходимое количество инсулина или вырабатывать инсулин высокого качества, при этом уровень сахара в крови становится высоким. Без лечения диабет провоцирует серьезные заболевания, такие как инсульт, сердечный приступ, ожирение и летальный исход.

Существует два основных типа диабета: тип 1, или «инсулинозависимый», который характеризуется деградацией инсулин-синтезирующих β -клеток поджелудочной железы, и тип 2, при котором поджелудочная железа перестает адекватно реагировать на присутствие инсулина [27]. Международная федерация диабета зарегистрировала, что в настоящее время около 425 миллионов человек страдают диабетом, из которых 90 % страдают сахарным диабетом 2 типа [28].

Исторически для исследования диабета использовали грызунов, но на данный момент их применение значительно ограничивается комитетами по биоэтике [75]. Хотя *Danio rerio* является представителем класса рыб, а не млекопитающих, результаты, полученные в ходе экспериментальных исследований диабета, могут быть экстраполированы на человека и при этом, не сталкиваясь с этическими проблемами.

В частности, для индукции ожирения контрольную группу *Danio rerio* кормили 6 раз в день *Artemia salina*. Все изменения, включая ретинопатию, невропатию и нефропатию, вызванные перекормиванием и гипергликемией, приводили к диабету 2 типа. Затем измеряли уровень сахара в крови [29] и назначали антидиабетические препараты для снижения концентрации углеводов крови. Таким образом, *Danio rerio* является идеальной моделью для моделирования и проведения целостного эксперимента, начиная от фактора, вызывающего заболевание, до выполнения процедуры лечения.

Токсикологические исследования

В последнее время в окружающей среде увеличилась концентрация органических загрязнителей, в основном представленных полициклическими ароматическими углеводородами и образующихся в результате неполного сгорания горючих органических материалов (например, угля, нефти, бензина и древесины). Эта группа загрязнителей, включая нафталин, дихлорфенол и ароматические пестициды, влияет на развитие эмбриона, вызывает повреждения ДНК, окислительный стресс и нарушает гуморальную регуляцию.

Кроме того, на планете практически не осталось водоемов, не подвергшихся загрязнению нефтью или нефтепродуктами. Помимо сырой нефти, которая попадает в водоемы в результате крушений танкеров, столкновений, аварий или пожаров, утечек нефти из береговых резервуаров, мойки танкеров в открытых водах и других техногенных катастроф, каждый год, в пресную и морскую воду сбрасывается большое количество разнообразных бытовых и промышленных отходов, таких, как технические и бытовые масла, жирные кислоты и спирты, синтетические поверхностно-активные вещества, образующие нерастворимые пленки на поверхности воды [30]. За последние 20 лет человечество пережило несколько экологических катастроф, связанных с обрушением танкеров, взрывами на буровых установках и разливом нефти в радиусе десятков километров.

Любое, даже незначительное загрязнение нефтью угрожает как водным, так и наземным экосистемам и может привести к таким необратимым последствиям в биогеоценозах, таким как полная гибель видов, населяющих биотоп. Наиболее уязвимыми являются водоросли, моллюски, ракообразные, рыбы и другие прибрежные животные. Среди популяций рыб больше всего страдает молодь.

Таким образом, наиболее важной возрастной категории рыб угрожает критическое состояние, которое может привести к резкому снижению численности популяции, что, в свою очередь, влечет за собой исчезновение вида.

Кроме того, *Danio rerio* широко используются для мониторинга окружающей среды и оценки степени загрязнения тяжелыми металлами, которые, помимо мутагенного эффекта, обладают способностью подавлять экспрессию генов. Показано, что ионы кадмия и цинка влияют на активность некоторых ферментов, в том числе супероксиддисмутазы, каталазы и ацетилхолинэстеразы. Некоторые тяжелые металлы отличаются эмбриотоксичностью: например, отмечено полное подавление экспрессии гена *dvf1*, ответственного за боковую асимметрию в эмбрионах зародышах под влиянием соединений мышьяка [31].

Чувствительность к различным видам загрязнителей делает *Danio rerio* идеальным модельным организмом для изучения изменений окружающей среды. В качестве биологических индикаторов изменчивости берутся поведенческие изменения, экспрессия генов, морфология и физиология. Международная организация стандартизации впервые опубликовала отчет об использовании *Danio rerio* в токсикологических тестах в 1984 г. [32].

Помимо химических загрязнителей отмечены биологические агенты, такие как охратоксин А, который вырабатывается грибами *Aspergillus* и *Penicillium*, обладающие чрезвычайной токсичностью. Охратоксин А может быть обнаружен повсеместно в различных концентрациях среди сельскохозяйственных культур, зерновых культур, во фруктах, лозах и других продуктах питания, а также известен своим накоплением у животных и людей [33].

Как у низших, так и у высших позвоночных охратоксин А приводит к серьезным заболеваниям внутренних органов — почек, печени, легких и др. Кроме того, охратоксин А обладает ярко выраженным эмбриотоксичным эффектом [34]. Благодаря чувствительности *Danio rerio* к любым токсинам можно определить минимальные концентрации охратоксина А, приводящие к увеличению смертности, физическим деформациям, снижению фертильности [35].

Таким образом, *Danio rerio* может служить не только модельным организмом для изучения человеческих заболеваний, но и как тест-объект для проведения оценки окружающей среды и возможных рисков для здоровья человека и животных.

Онкологические заболевания

Рак на сегодняшний день является одной из самых актуальных проблем в современной медицине. Каждый второй пациент умирает от одного из 200 видов рака, и это цифра продолжает неуклонно расти в то время, как до сих пор нет эффективного лекарственного средства, способного остановить или замедлить деление раковых клеток [36]. Проблемы, с которыми ежедневно сталкиваются ученые,

закключаются в том, что пока не объяснены механизмы возникновения рака. Каждый тип онкологии уникален и требует специальных подходов для изучения того, почему симметрично делящиеся клетки запускают процессы малигнизации и трансформации. Биологические, химические и физические факторы, такие как кислоты, щелочи, радиация, бактериальные и вирусные инвазии, табачный дым, гормональная стимуляция и т.д. могут спровоцировать повреждение ДНК [37].

По сравнению с нормально-функционирующими клетками, раковые клетки отличаются друг от друга по форме, цвету, размеру, структуре, молекулярным механизмам и той роли, которую они играют в организме. Среди множества гипотез доминируют две основные теории о развитии канцерогенеза: теория соматических мутаций и тканевая теория онкогенеза [38, 39].

Большинство экспериментов, связанных с развитием рака, основаны на использовании культуры клеток человека или других млекопитающих *in vitro* в полностью контролируемых лабораторных условиях. Хотя этот метод и имеет ряд преимуществ, так как дает возможность увидеть процесс деления аномальных клеток, существует и ряд ограничений, поскольку извлеченные и искусственно поддерживаемые клетки не могут отражать возраст организма и факторы окружающей среды, такие как стресс, бактериальные и вирусные атаки, нарушения метаболических процессов, травмы и т.д., влияющие на развитие раковой опухоли.

На первый взгляд, данную проблему могут решить опыты *in vivo* на мышах и крысах, которые филогенетически очень близки к приматам и, соответственно, человеку. Однако ученые отмечают, что исследования на грызунах крайне дорогостоящи и требуют высококвалифицированных специалистов [40].

Danio rerio и здесь успешно теснит *Mus musculus* и *Rattus norvegicus*, которые долгое время оставались самыми эффективными моделями для исследования онкологических заболеваний. Недавно были получены новые мутантные линии, в которые с помощью методов генетической инженерии были встроены гены, вызывающие различные виды рака [41]. Кроме того, методика ксенотрансплантации опухолей человека и грызунов ныне широко используется для индукции раковых образований *in vivo* в эмбрионах *Danio rerio* [42].

В силу специфических характеристик, таких, как небольшой размер, высокая рождаемость и быстрое созревание, *Danio rerio* предлагает широкий спектр возможностей для изучения внутриклеточных механизмов рака *in vivo* [43].

Заключение

Подытоживая результаты исследований, полученных учеными всего мира за последние 50 лет, можно сделать вывод, что *Danio rerio* обладает большим потенциалом во всех областях современной биологии и по праву занимает место одного из самых перспективных модельных объектов среди других организмов. Однако ввиду того, что до сих пор не учтены все особенности анатомии, морфологии и физиологии этой тропической рыбки, ученым предстоит изучить более детально все преимущества использования *Danio rerio* для последующих масштабных практических целей.

Список литературы

- 1 Menon A. Check list — fresh water fishes of India / A. Menon // Rec. Zool. Surv. India. — 1999. — P. 366.
- 2 Schaefer J. Developmental plasticity in the thermal tolerance of zebrafish *Danio rerio* / J. Schaefer, A. Ryan // Journal of Fish Biology. — 2006. — Vol. 69. — P. 722–734.
- 3 Braubach O.R. Distribution and functional organization of glomeruli in the olfactory bulbs of zebrafish (*Danio rerio*) / O.R. Braubach, A. Fine, R.P. Croll // J. Comp. Neurol. — 2012. — Vol. 1, No. 520(11). — P. 2317–2339.
- 4 Hamilton F. An account of the fishes found in the River Ganges and its branches / F. Hamilton // Edinburgh, UK: Constable and C, 1822.
- 5 Day F. The fishes of India; being a natural history of the fishes known to inhabit the seas and fresh waters of India, Burma, and Ceylon / F. Day // London: B. Quaritch, 1876.
- 6 Stansch K. Die exotischen zierfische in wort und bild. Braunschweig / K. Stansch // Germany: Gustav, Wenzel & Sohn, 1914. — P. 349.
- 7 Oppenheimer J. Structures Developed in Amphibians by Implantation of Living Fish Organizer / J. Oppenheimer // Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. — 1936. — Vol. 34. — P. 461–463.
- 8 Battle H.I. Effects of ethyl carbamate (Urethan) on the early development of the teleost *brachydanio rerio* / HI Battle, KK Hisaoka // Cancer Res. — 1952. — Vol. 12(5). — P. 334–340.
- 9 Urbani E. Studi di fisiologia embrionale dei teleostei; l'assunzione di ossigeno dell'uovo vergine fecondato e durante i primi stadi di sviluppo del *Brachydanio rerio* / E. Urbani // La Ricerca scientifica. — 1948. — Vol. 18. — P. 1047–1054.

- 10 Streisinger, G. Frameshift mutations and the genetic code / G. Streisinger, Y. Okada, J. Emrich, J. Newton, A. Tsugita, E. Terzaghi, M. Inouye // Cold Spring Harbor Symposium Quantitative Biology. — 1966. — Vol. 31. — P. 77–84.
- 11 Kimmel C.B. Stages of embryonic development of the zebrafish / C.B. Kimmel, W.W. Ballard, S.R. Kimmel, B. Ullmann, T.F. Schilling // Dev Dyn. — 1995. — Vol. 203(3). — P. 253–310.
- 12 Howe K. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome / K. Howe // Nature. — 2013. — Vol. 25. — P. 498–503.
- 13 Knaut H. The Tübingen 2000 Screen Consortium. A zebrafish homologue of the chemokine receptor Cxcr4 is a germ-cell guidance receptor / H. Knaut, C. Werz, R. Geisler, C. Nüsslein-Volhard // Nature. — 2000. — Vol. 421 (6920). — P. 279–282.
- 14 Brand M. Keeping and raising zebrafish' in Nüsslein-Volhard & Dahm. Zebrafish / M. Brand, M. Granato, C. Nüsslein-Volhard // A Practical Approach; Oxford University Press. — 2002. — P. 332.
- 15 Ruhl N. Shoaling preferences and the effects of sex ratio on spawning and aggression in small laboratory populations of zebrafish (Danio rerio) / N. Ruhl, S.P. McRobert, W.J. Currie // Lab Animal Europe. — 2009. — Vol. 9 (9). — P. 19–30.
- 16 Nasiadka A. Zebrafish breeding in the laboratory environment / A. Nasiadka, M.D. Clark // ILAR J. — 2012. — Vol. 53(2). — P. 161–168.
- 17 Goessling W. Repairing quite swimmingly: advances in regenerative medicine using zebrafish / W. Goessling, T.E. North // Dis Model Mech. — 2014. — Vol. 7. — P. 769–776.
- 18 Rienks M. Myocardial extracellular matrix: an ever-changing and diverse entity / M. Rienks, A.P. Papageorgiou, N.G. Frangogiannis, S. Heymans // Circ Res. — 2014. — Vol. 28, No. 114(5). — P. 872–888.
- 19 Grinnell F. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo / F. Grinnell, RE Billingham, L. Burgess // The Journal of Investigative Dermatology. — 1981. — Vol. 76(3). — P. 181–189.
- 20 Pfefferli C. The art of fin regeneration in zebrafish. Regeneration / C. Pfefferli, A. Jaźwińska // Oxford. — 2015. — Vol. 2(2). — P. 72–83.
- 21 Itou J. Life-long preservation of the regenerative capacity in the fin and heart in zebrafish / J. Itou, H. Kawakami, T. Burgoyne, Y. Kawakami // Biol Open. — 2012. — Vol. 1(8). — P. 739–746.
- 22 The top 10 causes of death. — [ЭП]. Retrieved from: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- 23 Ghosh S. Regeneration of Zebrafish CNS: Adult Neurogenesis / S. Ghosh, S.P. Hui // Neural Plast. — 2016. — Article ID 5815439.
- 24 Kaneko N. Adult neurogenesis and its alteration under pathological conditions / N. Kaneko, K. Sawamoto // Neurosci Res. — 2009. — Vol. 63(3). — P. 155–164.
- 25 Chapouton P. Adult neurogenesis in non-mammalian vertebrates / P. Chapouton, R. Jagasia, L. Bally-Cuif // Bioessays. — 2007. — Vol. 29 (8). — P. 745–757.
- 26 Asakawa K. Genetic dissection of neural circuits by Tol2 transposon-mediated Gal4 gene and enhancer trapping in zebrafish / M.L. Suster, K. Mizusawa, S. Nagayoshi, T. Kotani, A. Urasaki, Y. Kishimoto, M. Hibi, K. Kawakami // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. — 2008. — Vol. 105(4). — P. 1255–1260.
- 27 Todd J.A. Etiology of type 1 diabetes / J.A. Todd // Immunity. — 2010. — Vol. 32(4). — P. 457–467.
- 28 International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. — [ЭП]. Retrieved from: <http://www.diabetesatlas.org/>
- 29 Zang L. A novel, reliable method for repeated blood collection from aquarium fish / L.Zhang, Y. Shimada, Y. Nishimura, T. Tanaka, N. Nishimura // Zebrafish. — 2013. — Vol. 10(3). — P. 425–432.
- 30 Oil Tanker Spill Statistics 2017. — [ЭП]. Retrieved from: <https://www.itopf.org/knowledge-resources/data-statistics/statistics/>
- 31 Li X. Arsenic impairs embryo development via down-regulating Dvr1 expression in zebrafish / X. Li, Y. Ma, D. Li, X. Gao, P. Li, N. Bai, M. Luo, X. Tan, C. Lu, X. Ma // Toxicology Letters. — 2012. — Vol. 212. — P. 161–168.
- 32 Khezri A. A mixture of persistent organic pollutants and perfluorooctanesulfonic acid induces similar behavioural responses, but different gene expression profiles in Zebrafish Larvae / A. Khezri, Thomas W.K. Fraser, Rasoul Nourizadeh-Lillabadi, Jorke H. Kamstra, Vidar Berg, Karin E. Zimmer, Erik Ropstad // International Journal of Molecular Sciences. — 2017. — Vol. 18(2). — P. 291.
- 33 Bui-Klimke T.R. Ochratoxin A and human health risk: a review of the evidence / TR Bui-Klimke, F. Wu // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. — 2015. — Vol. 55(13). — P. 1860–1869.
- 34 Hood R.D. Prenatal effects of Ochratoxin A in hamsters / R.D. Hood, M.J. Naughton, A.W. Hayes // Teratology. — 1976. — Vol. 13(1). — P. 11–14.
- 35 Haq M. Teratogenicity of Ochratoxin A and the Degradation Product, Ochratoxin α , in the Zebrafish (Danio rerio) Embryo Model of Vertebrate Development / M. Haq, N. Gonzalez, K. Mintz, A. Jaja-Chimedza, CL De Jesus, C. Lydon, A. Welch, J.P. Berry // Toxins. — 2016. — Vol. 8(2). — P. 40.
- 36 Jemal A. Cancer statistics / A. Jemal, R. Siegel, E. Ward, Y. Hao, J. Xu, T. Murray, M.J. Thun // Cancer J. Clin. — 2008. — Vol. 58(2). — P. 71–96.
- 37 Sonnenschein C. Theories of carcinogenesis: an emerging perspective / C. Sonnenschein, A.M. Soto // Semin. Cancer Biol. — 2008. — Vol. 18(5). — P. 372–377.
- 38 Soto A.M. One hundred years of somatic mutation theory of carcinogenesis: is it time to switch? / A.M. Soto, C. Sonnenschein // Bioessays. — 2014. — Vol. 36 (1). — P. 118–120.
- 39 Rosenfeld S. Are the somatic mutation and tissue organization field theories of carcinogenesis incompatible? / S. Rosenfeld // Cancer Inform. — 2013. — Vol. 12. — P. 221–229.
- 40 Mizgirev I.V. Organism-Level Tumor Models in Zebrafish Danio rerio / I.V. Mizgirev, D.R. Safina, I.V. Demidyuk, S.V. Kostrov // Acta Naturae. — 2018. — Vol. 10 (2). — P. 24–29.

41 Chen E.Y. Zebrafish models of rhabdomyosarcoma / E.Y. Chen, D.M. Langenau // *Methods Cell Biol.* — 2011. — Vol. 105. — P. 383–402.

42 Jung D.W. A novel zebrafish human tumor xenograft model validated for anti-cancer drug screening / D.W. Jung, E.S. Oh, S.H. Park, Y.T. Chang, C.H. Kim, S.Y. Choi, D.R. Williams // *Mol Biosyst.* — 2012. — Vol. 8(7). — P. 1930–1939.

43 Ridges S. Zebrafish screen identifies novel compound with selective toxicity against leukemia / S. Ridges, W.L. Heaton, D. Joshi, H. Choi, A. Eiring, L. Batchelor, P. Choudhry, E.J. Manos, H. Sofla, A. Sanati // *Blood.* — 2012. — Vol. 119. — P. 5621–5631.

Л.П. Лебедева, З.Г. Айташева, Б.Ә. Жумабаева, И.А. Киселев, Д.Ә. Әлібекова

***Danio rerio* заманауи биомедицина мен биотехнологиядағы зерттеу нысаны ретінде**

Соңғы жылдары көптеген зерттеушілер эмбриогенездің жасушалық және биохимиялық механизмдердің табиғатын, органогенезін, ас қорыту және нейрореттеу процестерін, ұлпалар мен мүшелердің регенерациясын, жасушалық пролиферациясын және т.б. зерттеу үшін модельдік организм ретінде *Danio rerio*, шағын аквариум балығын, лаборатория тышқаны *Mus musculus*, егеуқұйрық *Rattus norvegicus* модельдік организмдерге қарағанда, көбірек таңдайды. Қазір *Danio rerio* тропикалық балықтары қатерлі ісіктің дамуы, семіздік, диабет, жүрек-тамыр және нейродегенеративті аурулар сияқты бірқатар патологияларды зерттеу үшін кеңінен қолданылады. Экологтар мен токсикологтар *Danio rerio* потенциалын мутагенді, канцерогенді және тератогенді поллютанттардың әсерін, сондай-ақ су айдындарының физикалық, химиялық және биологиялық жағдайын бағалау үшін тест-объект ретінде жоғары бағалайды. Сонымен қатар *Danio rerio* жуық арада биоэтика және биоқауіпсіздік жөніндегі ұлттық және халықаралық комитеттермен қолданысқа шектелген басқа модельді организмдерді алмастыра алады. Мақалада модельдік организм ретінде *Danio rerio* қолдану арқылы биомедицина, биотехнология және генетика саласындағы заманауи зерттеулердің нәтижелеріне шолу келтірілген.

Кілт сөздер: *Danio rerio*, зебрафиш, биомедицина, тест нысаны, модельдік ағза.

L.P. Lebedeva, Z.G. Aitashева, B.A. Zhumabayeva, I.A. Kiselev, D.A. Alibekova

***Danio rerio* as an object of research in modern biotechnology and biomedicine**

Recently, many researchers prefer the small *Danio rerio* aquarium fish as a model organism to study the nature of the cellular and biochemical mechanisms of embryogenesis, organogenesis, digestive and neuroregulatory processes, tissue and organ regeneration, cell proliferation, etc. Due to their small size, early puberty, high levels of fertility and simplicity, *Danio rerio* is a significant competitor to many model objects, including a laboratory mouse, *Mus musculus* and a rat, *Rattus norvegicus*. Nowadays *Danio rerio* are widely used to study a number of pathologies, such as the development of a cancer, obesity, diabetes, cardiovascular and neurodegenerative diseases. Ecologists and toxicologists also highly appreciated the potential of *Danio rerio* as a test object for assessing the mutagenic, carcinogenic and teratogenic effect of pollutants themselves, as well as the physical, chemical and biological state of water bodies. In addition, *Danio rerio* may soon replace many other model organisms, the use of which is limited by national and international bioethics and biosecurity committees. The article provides an overview of the results of modern research in the field of biomedicine, biotechnology and genetics using *Danio rerio* as a model organism.

Keywords: *Danio rerio*, zebrafish, biomedicine, test object, model organism.