

Escola Superior de Ensino do Instituto Butantan
Programa de Pós-graduação *Lato Sensu*
Curso de Especialização em Biotérios

Tânia Luísa Cabral da Costa

História do Zebrafish na pesquisa científica: uma breve revisão

São Paulo

2022

Tânia Luísa Cabral da Costa

História do Zebrafish na pesquisa científica: uma breve revisão

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Especialização em Biotérios do Programa de Pós-graduação *Lato Sensu* da Escola Superior do Instituto Butantan como requisito básico para a obtenção do título de Especialista em Biotérios.

Orientador (a): Dra. Mônica Lopes Ferreira.

São Paulo

2022

**Catálogo na Publicação
Instituto Butantan
Dados inseridos pelo(a) aluno(a)**

Costa, Tânia Luísa Cabral da

História do Zebrafish na Pesquisa Científica: uma breve revisão / Tânia Luísa Cabral da Costa ; orientador(a) Dra. Mônica Lopes Ferreira - São Paulo, 2022.

24 p. : il.

Monografia (Especialização) - Escola Superior do Instituto Butantan, Programa de Pós-Graduação Lato Sensu - Especialização em biotérios.

1. Danio rerio 2. Cypriniformes. 3. George Streisinger. 4. Modelo animal I. Ferreira, Dra. Mônica Lopes . II. Escola Superior do Instituto Butantan. III. Programa de Pós-Graduação Lato Sensu - Especialização em biotérios. IV. Título.

AUTORIZAÇÃO PARA ACESSO E REPRODUÇÃO DE TRABALHO

Eu, Tânia Luísa Cabral da Costa, aluna do Curso de Especialização em Biotérios, autorizo a divulgação do meu trabalho de conclusão de curso por mídia impressa, eletrônica ou qualquer outra, assim como a reprodução total deste trabalho de conclusão de curso após publicação, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Prazo de liberação da divulgação do trabalho de conclusão de curso após a data da avaliação:

- Imediato
- 06 meses
- 12 meses
- Outro prazo _____ Justifique:

São Paulo, 26 de janeiro de 2023.

Tânia Luísa C. Costa -

.....
Aluno(a)

Mônica Lopes Ferraz

De acordo:.....
Orientador(a):

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Dra. Vânia Gomes de Moura Mattaraia por me proporcionar essa incrível oportunidade de fazer parte desse curso e todo o seu esforço para termos uma grade curricular de qualidade.

Ao meu gestor Prof. Dr. Adriano Monteiro de Castro em conjunto com o Prof. Dr. Jan Carlo Delorenzi pelos esforços em me liberarem para realizar esse curso que me proporcionou valiosos conhecimentos, agregando ao nosso Biotério e na minha carreira.

A Dra. Mônica Lopes Ferreira que prontamente aceitou ser minha orientadora e por todo o conhecimento transmitido nas aulas e estágio.

Aos amigos que fiz nesse período que fizeram das minhas sextas-feiras muito mais agradáveis.

RESUMO

COSTA, Tânia Luísa Cabral da. **História do zebrafish na pesquisa científica**: uma breve revisão. 2022. 26 p. Trabalho de Conclusão de Curso Especialização em Biotérios - Escola Superior do Instituto Butantan, São Paulo, 2022.

O zebrafish (*Danio rerio*) foi descrito pela primeira vez pelo escocês e zoólogo Francis Hamilton, sendo uma das mais de 20 espécies do gênero *Danio* e uma das mais de 4.000 espécies dentro da ordem Cypriniformes. Na década de 80, o biólogo George Streisinger, professor do Instituto de Biologia Molecular da Universidade de Oregon - Estados Unidos é reconhecido como o fundador do modelo animal zebrafish, ele utilizou-o para explorar a base genética do desenvolvimento neural dos vertebrados, estudo esse publicado no periódico Nature. O zebrafish tem uma série de atributos que o torna um excelente modelo de pesquisa, cerca de 70% de seus genes são ortólogos aos genes humanos, sendo que destes, 82% possuem relevância a doenças humanas. Trabalhar com o zebrafish possibilita mais praticidade por ser eficiente e com baixo custo, vem substituindo cada vez mais as pesquisas realizadas com roedores. Inicialmente tornou-se popular como modelo de desenvolvimento de vertebrados, pelos embriões serem transparentes e por desenvolverem rapidamente. Na atualidade, a pesquisa está se expandindo para áreas, como farmacologia, pesquisa clínica como modelo de diversas doenças, descoberta de medicamentos e estudos toxicológicos, sendo esse último um dos campos onde se concentra uma parte significativa da produção científica brasileira. As pesquisas crescem para o aperfeiçoamento dos dados já existentes, reiterar as semelhanças com a biologia humana e para a descoberta de novos conhecimentos, que expandirão de forma positiva nosso desenvolvimento na saúde animal e humana.

Palavras-chave: *Danio rerio*. Cypriniformes. George Streisinger. Modelo animal. Pesquisa científica.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ilustração do zebrafish desenhada por Francis Hamilton	9
Figura 2 - Edição da Nature de maio-junho de 1981	10
Figura 3 - Fotografias do desenvolvimento embrio-larval do <i>Danio rerio</i>	11
Figura 4 - Produção científica usando o termo “zebrafish and Brazil” no Brasil de 2000 a 2022 na Plataforma Pubmed.....	15
Figura 5 - Produção científica usando o termo “zebrafish” no mundo de 2000 a 2022 na Plataforma Pubmed.....	16
Figura 6 - Algumas áreas de pesquisa que o zebrafish está presente	17
Figura 7 - Larva de zebrafish transgênico, usado para estudos em desenvolvimento do sistema nervoso	18

SUMÁRIO

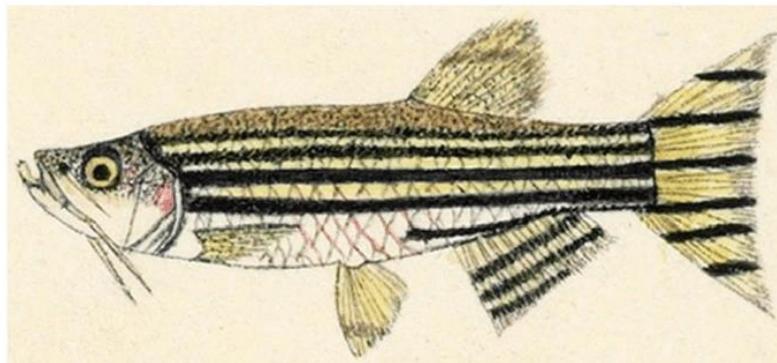
1.	INTRODUÇÃO	9
2.	OBJETIVO	12
3.	METODOLOGIA	13
4.	RESULTADOS	14
4.1.	Revisão de literatura	14
4.1.1.	Biologia do Desenvolvimento	19
4.1.2.	Patologias.....	20
4.1.3.	Farmacologia.....	21
4.1.4.	Toxicologia	21
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
	REFERÊNCIAS	24

1. INTRODUÇÃO

O zebrafish conhecido também como paulistinha ou peixe zebra, nativo das planícies de inundação do subcontinente indiano, onde é encontrado em águas rasas e de fluxo lento, é um pequeno teleósteo (3-4cm), da espécie *Danio rerio* e da família Cyprinidae (SILVEIRA; SCHNEIDER; HAMMES, 2012; SPENCE *et al.*, 2008).

No início do século XIX, *Danio rerio* foi descrito pela primeira vez pelo escocês e zoólogo Francis Hamilton, que iniciou o mapeamento de espécies de peixe de água doce na Índia e publicou registros de mais de 200 espécies, dentre elas o zebrafish (Figura 1). O zebrafish é uma das mais de 20 espécies do gênero *Danio* e uma das mais de 4.000 espécies dentro da ordem Cypriniformes (HAMILTON, 1822; MCCLUSKEY; BRAASCH, 2020).

Figura 1 – Ilustração de zebrafish desenhada por Francis Hamilton.

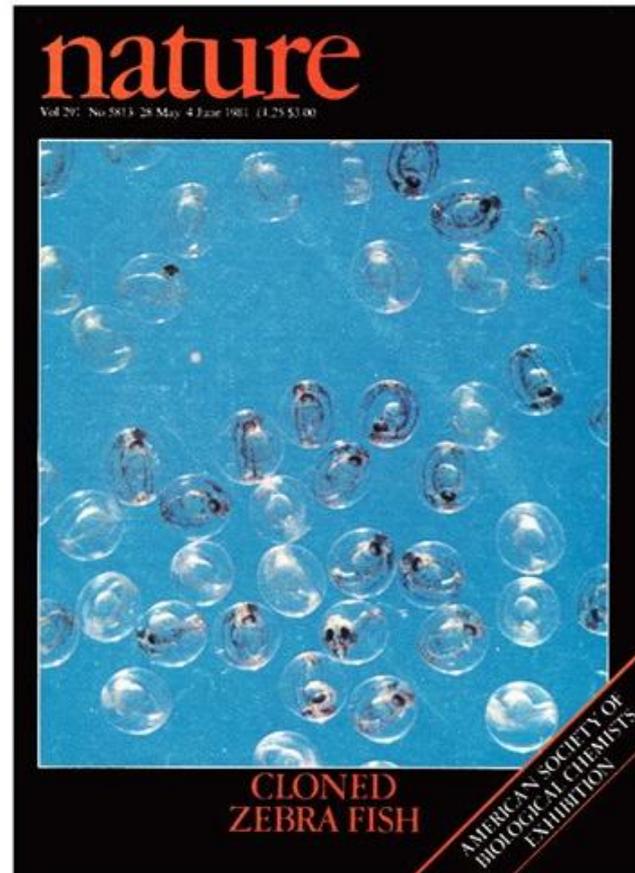


Fonte: HAMILTON, 1822.

A utilização do zebrafish nas pesquisas científicas ocorre inicialmente na década de 80, com o biólogo George Streisinger, professor do Instituto de Biologia Molecular da Universidade de Oregon, nos Estados Unidos, que escolheu o *D. rerio* como modelo para explorar a base genética do desenvolvimento neural dos vertebrados (BRADBURY, 2004; SILVEIRA; SCHNEIDER; HAMMES, 2012).

Seu artigo intitulado “Production of clones of homozygous diploid zebrafish”, publicado em 1981, no periódico Nature (Figura 2), é considerado um marco na medicina translacional (SILVEIRA; SCHNEIDER; HAMMES, 2012). Desde então o uso do modelo zebrafish em pesquisas científicas tem crescido exponencialmente nos últimos anos.

Figura 2 - Edição da Nature de maio-junho de 1981.

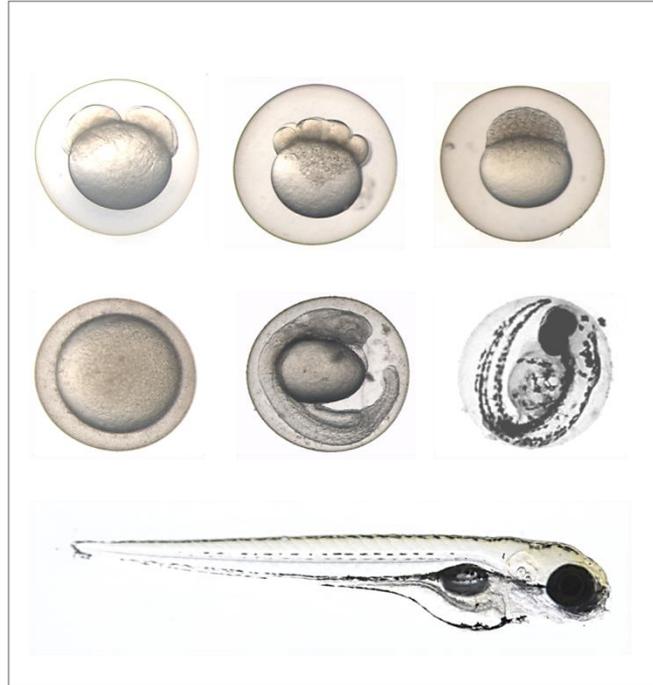


Nature Reviews | **Genetics**

Fonte: STREISINGER *et al.*, 1981.

A espécie tem uma série de atributos que o torna um excelente modelo de pesquisa. Diferente de muitos peixes, eles não são criadores sazonais, dessa forma os embriões podem ser obtidos ao longo do ano. A fertilização e todos os processos de desenvolvimento subsequentes ocorrem externo ao corpo materno, assim, são passíveis de observação e manipulação durante todo o período de desenvolvimento. Uma única fêmea de zebrafish pode produzir centenas de ovos em uma única desova, tornando possível ter números estatisticamente significativos de embriões para um único experimento. Os embriões e larvas de zebrafish são quase transparentes e se desenvolvem rapidamente (Figura 3), portanto, usando métodos microscópicos apropriados, é possível visualizar essencialmente todas as células ou estruturas individuais, durante o desenvolvimento, à medida que ocorrem (EISEN, 2020; FUKUSHIMA *et al.*, 2020).

Figura 3 – Fotografias do desenvolvimento embrio-larval do *Danio rerio*.



Fonte: LOPES-FERREIRA, 2022.

O ciclo de vida é curto, baixo custo e fácil manutenção em condições laboratoriais, genoma sequenciado, semelhança genética com os humanos e tem disponíveis linhagens mutantes, transgênicas e knockdown (CANEDO *et al.*, 2022).

2. OBJETIVO

O objetivo desse trabalho consiste em uma revisão de literatura que visa enfatizar a história do zebrafish como modelo animal nos laboratórios e sua aplicabilidade na pesquisa científica.

3. METODOLOGIA

Foi realizada revisão da literatura nacional e internacional sendo selecionados artigos científicos originais, artigos de revisão e livros que continham informações com as seguintes palavras-chave: zebrafish, *D. rerio*, *Danio rerio* in research, Streisinger e zebrafish research areas; a fim de relatar em que momento o zebrafish começou a fazer parte das pesquisas científicas e como vem sendo sua evolução nesse campo. Os artigos foram pesquisados nas seguintes plataformas: *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Google Acadêmico e PubMed, priorizando publicações a partir do ano 2000.

4. RESULTADOS

4.1. Revisão de literatura

Encontra-se estudos com embriões de zebrafish já na década de 1950, que envolvem embriologia e toxicologia, no entanto é o biólogo George Streisinger, professor do Instituto de Biologia Molecular da Universidade de Oregon, nos Estados Unidos, que é reconhecido como o fundador do modelo animal zebrafish, estabelecendo esta incrível nova ferramenta de pesquisa em todo o mundo. Nenhum desses estudos iniciais incorporou o tipo de análise genética, que foi a abordagem central de Streisinger, com o intuito de obter uma compreensão mecanicista (EISEN, 2020; GRUNWALD; EISEN, 2002).

Na década de 1960, os seus estudos sobre mutações recessivas o levaram a buscar e estabelecer um novo modelo funcional de vertebrados. Streisinger inicialmente trouxe várias espécies de peixes tropicais, incluindo o medaka, para seu laboratório, no entanto não foi descoberto nenhum registro descrevendo a base da sua escolha (GRUNWALD; EISEN, 2002). Independente das razões para a escolha do zebrafish por Streisinger, está claro que é um excelente modelo animal de pesquisa, baseado em várias características de seu desenvolvimento (EISEN, 2020). Uma das maiores conquistas de Streisinger foi o desenvolvimento de um método para produção de diplóides homocigotos de zebrafish, estudo esse publicado no periódico *Nature*, considerado um marco na medicina translacional (SILVEIRA; SCHNEIDER; HAMMES, 2012; STREISINGER *et al.*, 1981).

Charles Kimmel, também da Universidade de Oregon, é outro pesquisador que ganhou reconhecimento e respeito usando o zebrafish como sistema modelo, com o foco primário de neurobiologia que resultou no desenvolvimento de técnicas fluorescentes que permitem o rastreamento da linhagem neural e a descoberta da estrutura segmentar do cérebro do zebrafish (EISEN, 2020). O artigo de Kimmel e colegas, sobre os estágios do desenvolvimento embrionário do zebrafish, publicado em 1995 (KIMMEL *et al.*, 1995), foi uma das poucas publicações influentes para o campo de pesquisa com o zebrafish (KINTH; MAHESH; PANWAR, 2013). Nesse artigo é descrito com detalhes o desenvolvimento embrionário inicial, fornecendo a estrutura de concepção e manejo para todos os laboratórios do mundo, permitindo a padronização dos dados (GRUNWALD; EISEN, 2002).

Outro importante marco ocorreu na década de 1990, quando o grupo de Oregon, facilitou a comunicação científica entre os pesquisadores do mundo todo ao sediar uma reunião que destacou a aplicabilidade do modelo zebrafish e estabeleceram um curso informal sobre criação, genética e embriologia da espécie (EISEN, 2020).

Monte Westerfield, membro do grupo Oregon, criou o “Zebrafish Book” (http://zfin.org/zf_info/zfbook/zfbk.html), uma cartilha sobre a metodologia do zebrafish, e mais tarde fundou o Zebrafish Information Network (ZFIN) (<http://zfin.org>), que hospeda o banco de dados do modelo zebrafish, sendo referência mundial. Westerfield também fundou o Zebrafish International Resource Center – ZIRC, o primeiro repositório genético do zebrafish. Nos anos seguintes, houve uma proliferação de encontros e cursos sobre o tema, em vários locais do mundo (EISEN, 2020; SPRAGUE *et al.*, 2006).

Christiane Nusslein-Volhard do Instituto Max Plank em Tübingen - Alemanha, ganhadora do Prêmio Nobel, é outra cientista que causou grande impacto no campo de pesquisa com o zebrafish, atuou na manipulação de genes importantes para o desenvolvimento e formação de órgãos. A cientista, através da geração de mutantes de zebrafish desenvolveu uma extensa análise do efeito da falta de genes ao longo do desenvolvimento (BRADBURY, 2004).

Um grupo de cientistas do Wellcome Trust Sanger Institute - Reino Unido iniciou em 2001 e finalizou em 2013, o sequenciamento completo do genoma do zebrafish (HOWE *et al.*, 2013; LARS; BEATA, 2022). A partir daí foi possível observar que cerca de 70% de seus genes são ortólogos aos genes humanos, sendo que destes, 82% possuem relevância a doenças humanas (HOWE *et al.*, 2013; ROPER; TANGUAY, 2018). Muito semelhante aos camundongos que possuem aproximadamente 75% de homologia, dessa forma pelo zebrafish ser mais prático, eficiente e com baixo custo, ele vem substituindo cada vez mais as pesquisas realizadas com roedores, por ser capaz de acelerar e baratear os experimentos. Atualmente, a exibição da sequência genômica completa do zebrafish permite a geração de linhagens mutantes e é crucial para a maioria, se não para todos, os estudos envolvendo o zebrafish (CANEDO *et al.*, 2022; FUKUSHIMA *et al.*, 2020).

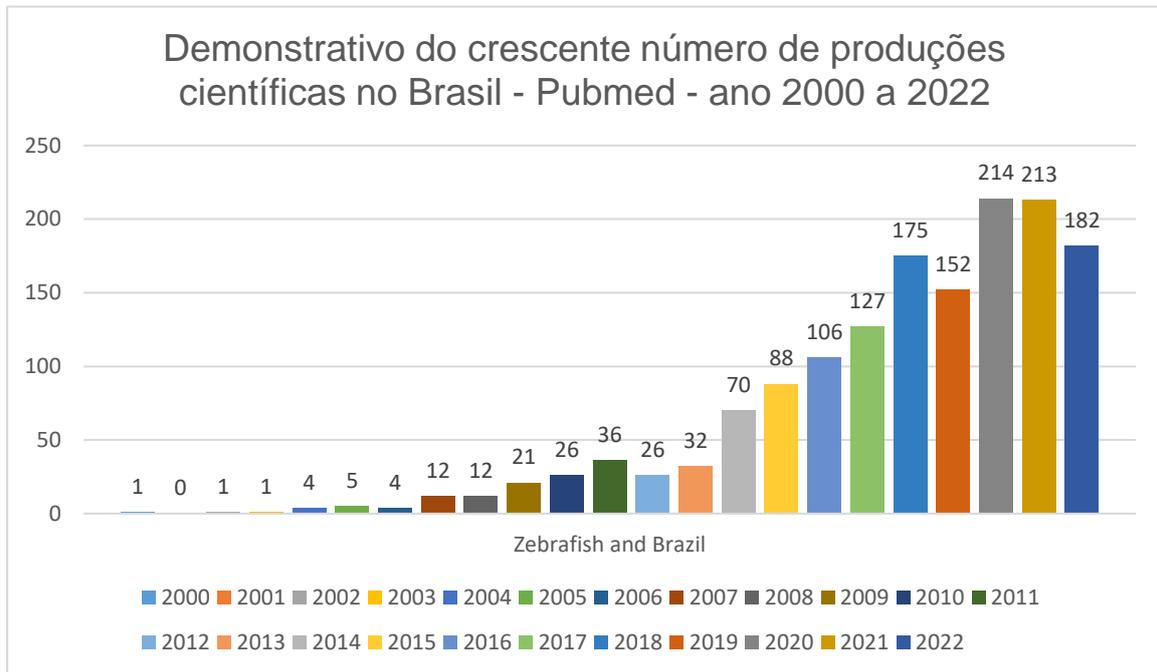
A popularidade do zebrafish continuou a aumentar como modelo para investigar os mecanismos celulares, moleculares e genéticos subjacentes aos

processos de desenvolvimento. No ZFIN, a partir de 2019, havia mais de 1300 laboratórios listados em todo o mundo que utilizam o zebrafish para investigar a biologia animal e mecanismos de doenças humanas (EISEN, 2022).

Com relação ao Brasil, o número de grupos de pesquisa que utilizam o modelo experimental zebrafish cresceu consideravelmente desde 1996, tanto em relação ao número de publicações quanto em colaborações realizadas. O primeiro artigo usando o zebrafish como modelo animal, foi publicado no *Journal of Anatomy* em 1999, intitulado “Morphometric Study of the Regeneration of Individual Rays in Teleost Tail Fins” (GHENO *et al.*, 2016). Em 2013, de acordo com Kinth; Manesh; Panwar (2013) o Brasil estava entre os 25 países mais produtivos envolvendo pesquisas com o zebrafish, ocupando a 22^a posição e sendo um dos cinco países emergentes da lista.

Gheno *et al.* (2016), reforça que a produção científica brasileira está em constante crescimento (Figura 4) e relata que no que diz respeito às áreas de pesquisa, o Brasil não segue as mesmas tendências mundiais de publicações. Grande parte da produção científica brasileira está concentrada nas áreas de Toxicologia e Neurociências, enquanto a produção mundial está concentrada nas categorias de Biologia do Desenvolvimento e Biologia Molecular. Em 2020, de acordo com Trigueiro *et al.* os dados demonstraram um rápido crescimento da produção científica brasileira, especialmente em três áreas: neurociência e comportamento, farmacologia e toxicologia e meio ambiente/ecologia.

Figura 4 – Produção científica usando o termo “zebrafish and Brazil” no Brasil de 2000 a 2022 na Plataforma Pubmed.

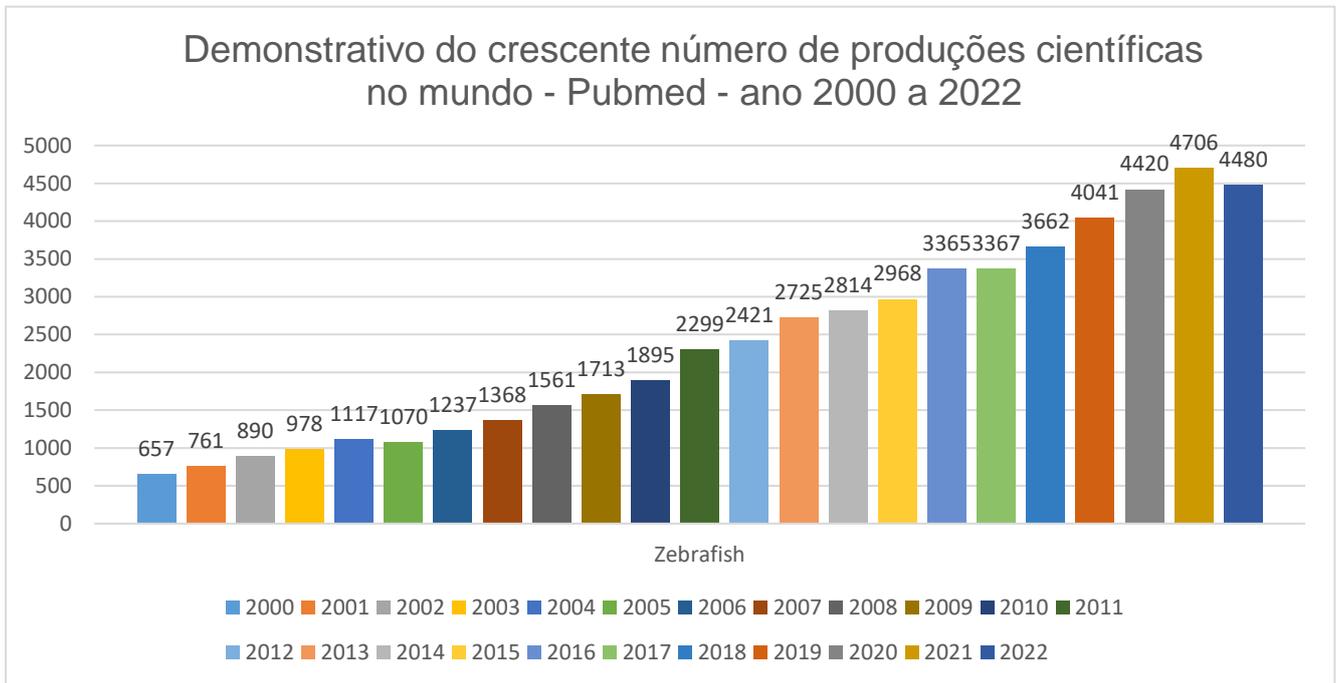


Fonte: próprio autor, 2022.

Em 2010, os pesquisadores da América Latina demonstrando interesse no modelo, criaram a Rede Latino-Americana do Zebrafish (LAZEN), onde encontra-se os principais grupos de pesquisa e laboratórios que utilizam o zebrafish em diferentes linhas de pesquisa (ALLENDE *et al.*, 2011). Os principais objetivos da rede são promover o uso do modelo experimental, facilitar o intercâmbio de materiais e fomentar a formação de jovens cientistas.

O uso do zebrafish na pesquisa científica está crescendo muito rapidamente (Figura 5), inicialmente ele era popular como modelo de desenvolvimento de vertebrados, pelos embriões serem transparentes e por desenvolverem rapidamente. Na atualidade, a pesquisa está se expandindo para outras áreas, como farmacologia, pesquisa clínica como modelo de diversas doenças e descoberta de medicamentos. Nas pesquisas biomédicas o modelo animal é usado para entender a patogênese da doença humana em nível celular e molecular, e dessa forma fornecer sistemas para desenvolver e testar novas terapias (FUKUSHIMA *et al.*, 2020).

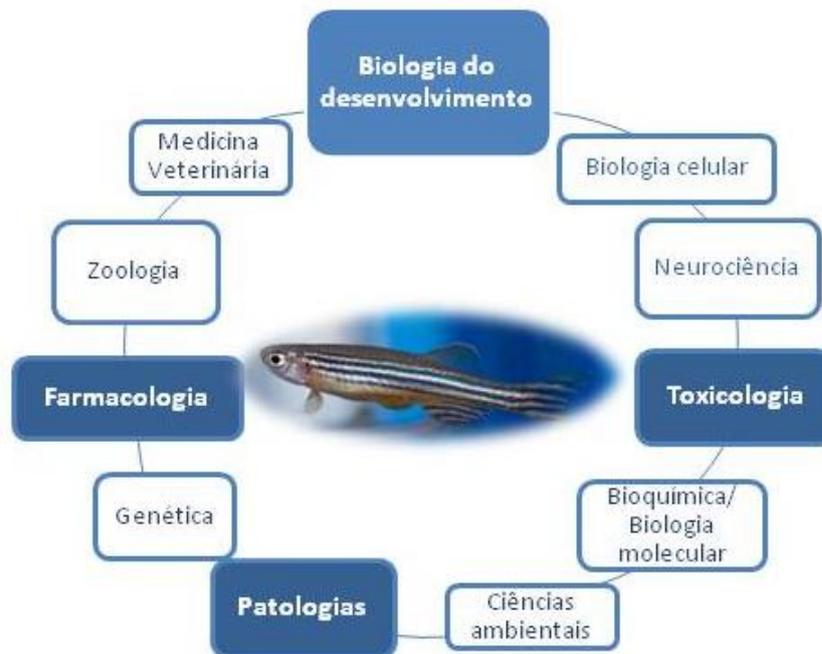
Figura 5 – Produção científica usando o termo “zebrafish” no mundo de 2000 a 2022 na Plataforma Pubmed.



Fonte: próprio autor, 2022.

Adiante será destacado alguns campos de pesquisa onde os estudos com o zebrafish são crescentes, sendo uma delas a Toxicologia onde se concentra uma parte significativa da produção científica brasileira (GHENO *et al.*, 2016). Entretanto é importante ressaltar que o zebrafish está presente em várias outras áreas de pesquisa científica (Figura 6).

Figura 6 – Algumas áreas de pesquisa que o zebrafish está presente.



Fonte: próprio autor, 2022.

4.1.1. Biologia do Desenvolvimento

O zebrafish provou ser um excelente modelo para compreender os processos complexos do desenvolvimento por vários motivos, sendo o principal deles a adequação genética e o embrião transparente (DAWID, 2004).

Os processos de divisão celular, diferenciação, comunicação celular, migração e morfogênese estão no escopo dos estudos envolvendo a espécie (LARS; BEATA, 2022).

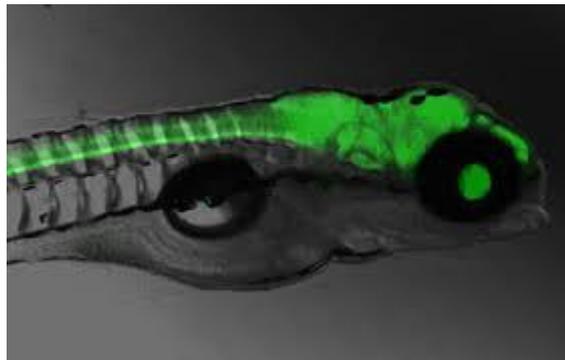
Estudos detalham áreas específicas do desenvolvimento, como o processo da embriogênese denominado de gastrulação, onde o zebrafish é considerado um modelo útil para o estudo desse complexo estágio. No zebrafish, esse estágio ocorre de 5,25 a 10 horas pós fertilização (hpf) e envolve os movimentos morfogenéticos evolutivamente conservados: internalização, epibolia, convergência e extensão (ROPER; TANGUAY, 2018).

Outro processo estudado de forma detalhada é o processo de organogênese que resulta no desenvolvimento dos órgãos, que nos vertebrados geralmente requer várias etapas. No zebrafish, o período crítico de organogênese é de 18 a 24hpf e a

maioria dos órgãos estão totalmente desenvolvidos em 96hpf, isso permite estudos relativamente rápidos que são beneficiados pela transparência óptica da espécie. Outra vantagem é a disponibilidade de linhagens transgênicas que expressam a coloração verde fluorescente, a partir de um promotor específico para determinado tecido, permitindo a análise de um tecido ou órgão particular (Figura 7). Relacionado a organogênese, uma das áreas de destaque é o desenvolvimento dos olhos que é usado como um modelo para distúrbios oculares humanos, apesar das diferenças estruturais entre os olhos do zebrafish e outros vertebrados (ROPER; TANGUAY, 2018).

Outras pesquisas extensas que o zebrafish está presente é nos diferentes aspectos do desenvolvimento do sistema nervoso, área comportamental, na formação do sistema cardiovascular e linfático (LARS; BEATA, 2022).

Figura 7 – Larva de zebrafish transgênico, usado para estudos em desenvolvimento do sistema nervoso.



Fonte: DAMMSKI *et al.*, 2011.

4.1.2. Patologias

O campo de pesquisa do zebrafish também cresceu na área de patologias, incluindo um número incontável de modelos de doenças, com o intuito de elucidar os processos e respostas imunológicas do hospedeiro frente ao patógeno. A lista de alguns modelos de doenças humanas para as quais o zebrafish está contribuindo nas pesquisas, inclui câncer, tuberculose, distúrbios do desenvolvimento neurológico, neurodegenerativos e psiquiátricos, doenças renais, doenças cardiovasculares, doenças musculoesqueléticas, disfunções do trato gastrointestinal e dentre outras (EISEN, 2020; KARI; RODECK; DICKER, 2007).

Esses modelos em geral podem ser divididos em três categorias diferentes, sendo elas: modelos genéticos em que um gene foi mutado para sintetizar uma variante genética causadora da doença; modelos químicos em que uma condição patológica é reproduzida pela exposição a moléculas químicas; e modelos de transplante em que linhagens de células cancerosas ou xenoenxertos derivados de pacientes são transplantados no zebrafish (LARS; BEATA, 2022). Além disso, tem disponível muitas linhagens transgênicas que permitem a triagem de alterações fenotípicas e fisiológicas após a exposição a pequenas moléculas (EISEN, 2020).

4.1.3. Farmacologia

O zebrafish tornou-se um excelente modelo para descoberta e teste de medicamentos, pois permite a realização, em larga escala, de “screening” em ensaios pré-clínicos de medicamentos e na identificação de tecidos-alvo através de ensaios-teste com substâncias, compostos ou medicamentos. Além disso, vem sendo uma alternativa aos roedores e possibilitando ensaios a nível da nanoescala (ESCALEIRA, 2017).

Durante a organogênese, os embriões de zebrafish são permeáveis a pequenas moléculas, proporcionando fácil acesso para administração de drogas. E a clareza óptica e o pequeno tamanho dos embriões facilitam acompanhar a eficácia ou não de um tratamento medicamentoso in vivo e em tempo real (KARI; RODECK; DICKER, 2007).

4.1.4. Toxicologia

O campo de toxicologia é cada vez mais importante devido ao crescente repertório de produtos químicos, incluindo plásticos e nanomateriais, sendo produzidos pela sociedade atual (ROPER; TANGUAY, 2018).

O modelo zebrafish também é muito usado em teste de toxicidade por oferecer uma poderosa plataforma in vivo, pela sua facilidade em absorver e metabolizar substâncias, sua clareza óptica e desenvolvimento externo, dessa forma fornece também uma possibilidade única de estudar os efeitos teratogênicos de toxinas, produtos químicos e drogas durante o desenvolvimento embrionário (LARS; BEATA, 2022).

Ademais é um modelo extremamente útil para monitoramento ambiental, avaliar presença de poluentes, presença de metais pesados e ter acesso aos mecanismos de ação dessas substâncias tóxicas que trazem malefício ao meio ambiente e à saúde humana (ESCALEIRA, 2017).

Para exemplificar citamos abaixo os campos de pesquisa apresentados e exemplos de produções científicas extraídas do Pubmed filtrando a pesquisa para o ano de 2022 (Tabela 1).

Tabela 1. Áreas de pesquisa com o modelo zebrafish e respectivos exemplos de produções científicas.

Áreas de pesquisa com o modelo zebrafish e respectivos exemplos de publicações – Pubmed 2022.	
Biologia do Desenvolvimento	DEVELOPMENTAL AND REGENERATIVE BIOLOGY OF CARDIOMYOCYTES. DOI: 10.1387/ijdb.210159kh
Patologia	ZEBRAFISH AS A MODEL ORGANISM FOR DISEASE. DOI: 10.3389/fnmol.2022.940484
Farmacologia	RECENT DEVELOPMENT IN ZEBRAFISH MODEL FOR BIOACTIVITY AND SAFETY EVALUATION OF NATURAL PRODUCTS. DOI: 10.1080/10408398.2021.1931023
Toxicologia	IMPACT OF PHARMACEUTICAL PRODUTS ON ZEBRAFISH: AN EFFECTIVE TOOL TO ASSESS AQUATIC POLLUTION. DOI: 10.1016/J.CBPC.2022.109439

Fonte: próprio autor, 2022.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As pesquisas utilizando o modelo animal zebrafish crescem de forma acelerada para o aperfeiçoamento dos dados já existentes, reiterar as semelhanças com a biologia humana e para a descoberta de novos conhecimentos, que expandirão de forma positiva nosso desenvolvimento na saúde animal e humana. Certamente é um campo promissor que está atraindo cada vez mais pesquisadores e instituições.

Ademais, é um modelo que otimiza a substituição dos roedores em alguns campos de pesquisa, economizando recursos, geração de resíduos e acelerando os resultados pelo seu rápido desenvolvimento.

REFERÊNCIAS¹

- ALLENDE, M. L. *et al.* First meeting of the Latin American zebrafish network. **Mary Ann Liebert**, n. 1, v. 8, 2011. DOI: 10.1089/zeb.2010.0687. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21342018/>. Acesso em: 10 nov. 2022.
- BRADBURY, J. Small fish, big science. **PLoS Biology**, v. 2, n. 5, p. 568-572, May, 2004. DOI: 10.1371/journal.pbio.0020148. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC406403/>. Acesso em: 30 ago. 2022.
- CANEDO, A. *et al.* O peixe-zebra (*Danio rerio*) encontra a bioética: os princípios éticos dos 10Rs na pesquisa. **Ciência Animal Brasileira**, v. 23, 2022. DOI: 10.1590/e-ISSN 1809-6891 1809-6891v22e-70884. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cab/a/HsNhVXVRCsHTdYmLtqXfv5J/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 30 ago. 2022.
- DAMMSKI, A. P. *et al.* Zebrafish: Manual de criação em biotério. **Universidade Federal do Paraná**, 2011. Disponível em: <https://gia.org.br/portal/wp-content/uploads/2013/06/ZEBRAFISH.pdf.pdf>. Acesso em: 30 ago. 2022.
- DAWID, I. B. Developmental Biology of Zebrafish. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1038, n. 1, p. 88-93, 2004. DOI:10.1196/annals.1315.015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15838101/>. Acesso em: 10 nov. 2022.
- EISEN, J. S. History of zebrafish research. *In*: CARTNER, S. C. *et al.* **The zebrafish in biomedical research**. Elsevier, 2020, cap. 1.
- ESCALEIRA, R. C. O Zebrafish (*Danio rerio*): contribuições para a pesquisa biomédica na Marinha do Brasil. **Arq. Brasi. Med. Naval**, v. 78, n. 1, 2017. Disponível em: <http://portaldeperiodicos.marinha.mil.br/index.php/abmn/article/view/291>. Acesso em: 10 nov. 2022.
- FUKUSHIMA, H. *et al.* Potenciais usos do modelo animal zebrafish *Danio rerio* em pesquisas na Medicina Veterinária. **Revista mv&z**, v. 18, n. 1, 2020. DOI: 10.36440/recmvz.v18i1.38049. Disponível em: <https://www.revistamvez-crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/view/38049>. Acesso em: 01 nov. 2022.
- GHENO, E. M. *et al.* Zebrafish in Brazilian Science: Scientific Production, Impact, and Collaboration. **Mary Ann Liebert, Inc.**, n. 3, v. 13, p. 1-9, Jun. 2016. DOI: 10.1089/zeb.2015.1183. Disponível em: <http://doi.org/10.1089/zeb.2015.1183>. Acesso em: 11 nov. 2022.

¹ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação - referências - elaboração. Rio de Janeiro: ABNT, 2018.

GRUNWALD, D. J.; EISEN, J. S. Headwaters of the zebrafish - emergence of a new model vertebrate. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, p. 717-724, Set. 2002. DOI: 10.1038/nrg892. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrg892>. Acesso em: 10 nov. 2022.

HAMILTON, F. An account of the fishes found in the river Ganges and its branches. **Edinburgh: Archibald Constable and Company**, 1822. Disponível em: <https://doi.org/10.5962/bhl.title.6897>. Acesso em: 30 ago. 2022.

HOWE, K. *et al.* The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, v. 496, p. 498-503, 2013. DOI: 10.1038/nature12111. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature12111>. Acesso em: 01 nov. 2022.

KARI, G.; RODECK, U.; DICKER, A. Zebrafish: An Emerging Model System for Human Disease and Drug Discovery. **Nature**, v. 82, n. 1, 2007. DOI: 10.1038/sj.clpt.6100223. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17495877/>. Acesso em: 10 nov. 2022.

KIMMEL, C. B. *et al.* Stages of Embryonic Development of the Zebrafish. **Developmental Dynamics**, n. 3, v. 203, p. 253-310, Jul. 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/aja.1002030302>. Acesso em: 05 nov. 2022.

KINTH, P.; MAHESH, G.; PANWAR, Y. Mapping of zebrafish research: a global outlook. **Mary Ann Liebert**, n. 4, v. 10, p. 510-517, 2013. DOI: 10.1089/zeb.2012.0854. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3842892/>. Acesso em: 05 nov. 2022.

LARS, B.; BEATA, F. G. Biology and research applications. *In*: D'ANGELO, L.; GIROLAMO, P. **Laboratory Fish in Biomedical Research**, Elsevier, 2022, cap. 1. MCCLUSKEY, B. M.; BRAASCH, I. Zebrafish taxonomy and phylogeny or taxonomy and phylogeny. *In*: CARTNER, S. C. *et al.* **The zebrafish in biomedical research**. Elsevier, 2020, cap. 1.

ROPER, C.; TANGUAY, R. L. Zebrafish as a model for developmental biology and toxicology. *In*: SLIKKER JR., W.; PAULE, M. G.; WANG, C. **Handbook of developmental neurotoxicology**. 2 ed. Elsevier, 2018, cap. 12.

SILVEIRA, T. R.; SCHNEIDER, A. C.; HAMMES, T. O. Zebrafish: modelo consagrado para estudos de doenças humanas. **Cienc. Cult.**, São Paulo, v. 64, n. 2, 2012. DOI: 10.21800/S0009-67252012000200002. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252012000200002. Acesso em: 30 ago. 2022.

SPENCE, R. *et al.* The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. **Biol. Ver. Camb. Philos. Soc.**, v. 83, n. 1, p. 13-34, 2008. DOI: 10.1111/j.1469-185X.2007.00030.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18093234/>. Acesso: 30 ago. 2022.

SPRAGUE, J. *et al.*, The Zebrafish Information Network: the zebrafish model organism database. **Nucleic Acids Research**, v. 34, 2006. DOI: 10.1093/nar/gkj086. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16381936/>. Acesso em: 30 ago. 2022.

STREISINGER, G. *et al.* Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). **Nature**, Oregon, v. 291, p. 293-296, May. 1981. DOI: 10.1038/291293a0. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/291293a0>. Acesso em: 11 nov. 2022.

TRIGUEIRO, N. S. S. *et al.* Zebrafish as an emerging model system in the Global South: two decades of research in Brazil. **Mary Ann Liebert**, v. 17, n. 6, p. 412-425, 2020. DOI: 10.1089/zeb.2020.1930. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33090089/>. Acesso em: 30 ago. 2022.