

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

Gabriel Batista de Faria

Revisão da anatomia e dos principais órgãos do *Zebrafish (Danio rerio)*

São Paulo

2022

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, em razão do avanço nas pesquisas, modelos experimentais vêm sendo utilizados em aplicações de testes inovadores e pesquisas biológicas aprofundadas. Isso para compreender vias associadas às doenças, e assim incorporar novas possibilidades terapêuticas com uma maior eficiência e menores efeitos colaterais. A ciência vem buscando alternativas que possam de maneira fidedigna reportar ou se aproximar de modelos que representem a um menor custo e esteja associado filogeneticamente mais próximo do homem. (FERREIRA *et al.*, 2005).

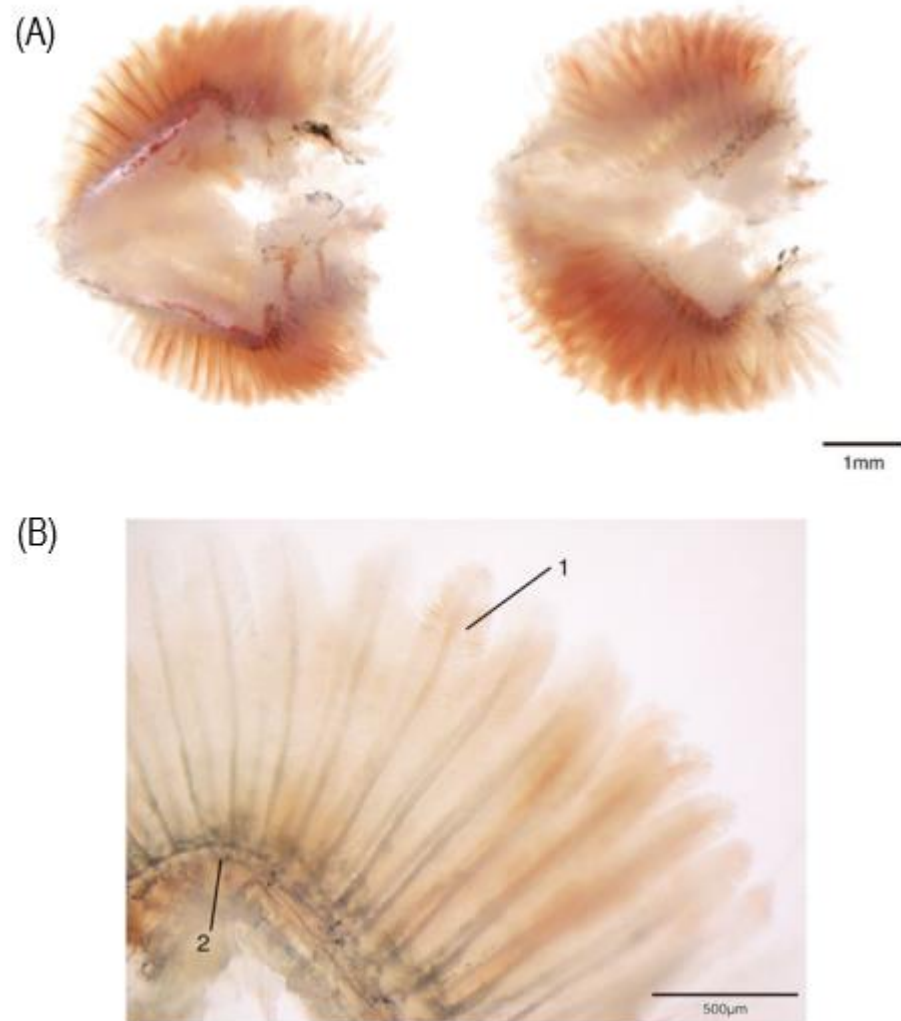
Um modelo tem-se destacado na literatura pela sua versatilidade quanto às possíveis aplicações (SILVEIRA *et al.*, 2012). Este modelo está associado com a utilização do *Danio rerio*, popularmente conhecido como zebrafish ou paulistinha (LAWRENCE, 2007). É um pequeno teleosteo da família Cyprinidae de água doce que tem um tamanho médio total de 2-3 cm quando criados em condições ideais, apesar do seu pequeno porte, é de fácil manuseio e na sua fase embrionária é transparente, o que facilita os estudos em diversas doenças (DAMMSKI *et al.*, 2011).

O pioneiro a estudar esta espécie foi George Streisinger, o qual, no final da década de 60, utilizou técnicas de análise mutacional para avaliar o desenvolvimento embrionário do zebrafish (STREISINGER *et al.*, 1981).

Muitos órgãos deste peixe são semelhantes aos dos humanos, sua anatomia é descrita com dois olhos, boca, coração, ductos biliares, cérebro, intestino, medula espinhal, baço, fígado, orelha, rim, nariz e pâncreas. Também tem sangue, cartilagem, ossos e dentes, tornando-o um modelo de pesquisa ideal para replicar doenças humanas. Apesar do zebrafish ser muito diferente morfológicamente do homem, compartilha uma variedade de genes e vias evolutivamente conservadas com outros vertebrados.

O zebrafish tem grande potencial como modelo animal alternativo para estudos em diversas doenças, neste trabalho foi possível descrever sua anatomia e seus principais sistemas de órgãos e uma breve descrição de suas funções.

Figura 5- Anatomia das brânquias do zebrafish.



Fonte: Adaptado de LIN; CHEN; HU, 2022

Legenda: (A) Brânquias do zebrafish em ambos os lados. (B) estrutura anatômica das brânquias - 1. Filamento branquial; 2. Arco branquial.

4.2.5 Sistema urogenital

Nos zebrafish, os rins estão localizados na região retroperitoneal e são divididos em porções cranial e caudal, também conhecidas como cabeça e corpo do rim, respectivamente (DAMMSKI *et al.*, 2011).

A principal função dos rins em teleósteos de água doce é eliminar o grande volume de água que entra pelas brânquias.

Os ossos do zebrafish não apresentam cavidade medular, como é encontrado em mamíferos, e o tecido hematopoiético encontra-se no rim e no baço. Nos adultos, a hematopoiese ocorre no interstício anterior e posterior do rim (MENKE *et al.*, 2011). Como outros teleósteos, o zebrafish não possui linfonodos.

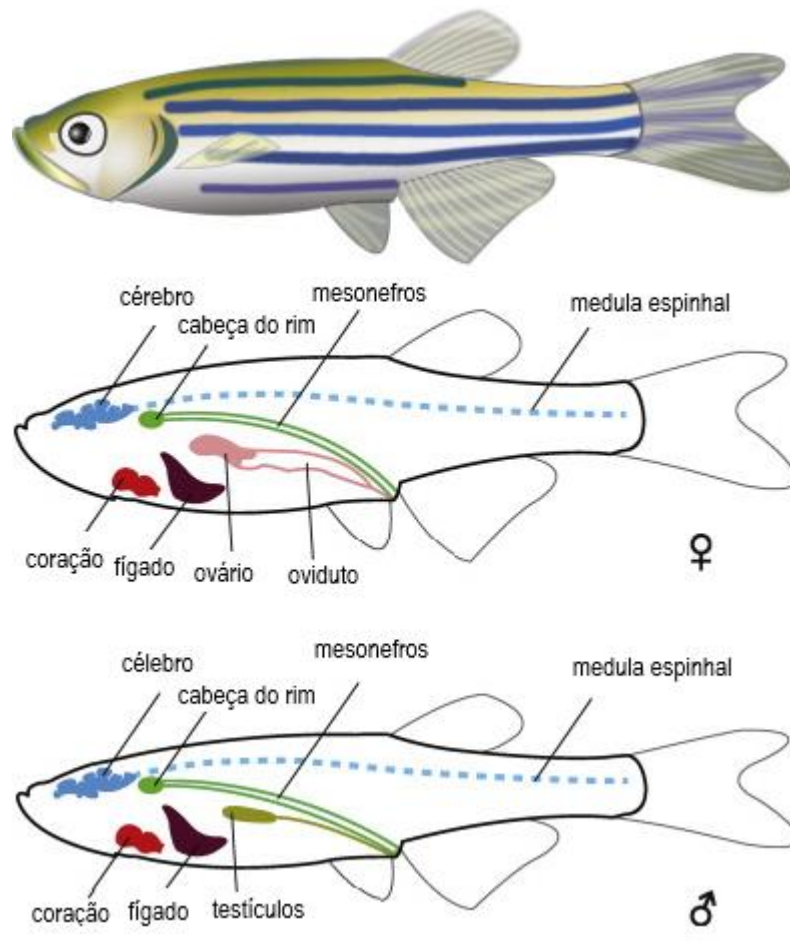
Juntamente com o baço, o rim forma o principal órgão de filtração para a remoção de agentes estranhos e células sanguíneas defeituosas (MENKE *et al.*, 2011). As principais funções dos rins do zebrafish e a sua anatomia glomerular são similares às dos humanos.

Uma característica marcante no sistema urogenital do zebrafish, é a ausência da bexiga urinária e da próstata (DAMMSKI *et al.*, 2011).

Na reprodução do zebrafish, a biologia molecular e a embriologia das células germinativas são similares às dos humanos. Nos machos com um par de testículos, que são órgãos laterais pareados que compreendem uma série de túbulos ou sacos cegos, que são revestidos com epitélio espermatozoides e nas fêmeas os ovários são compostos por vários oócitos (Figura 6), a diferença é que em zebrafish a fertilização acontece na água e ao invés de terem zona pelúcida, eles têm córion (DAMMSKI *et al.*, 2011).

Trabalhos têm sido publicados com ambos os sexos de zebrafish a fim de identificar genes candidatos que possam estar envolvidos no processo de diferenciação sexual. Diversos fatores ambientais podem influenciar a diferenciação sexual em zebrafish, dentre os principais estão a temperatura, que pode afetar diretamente a proporção sexual de indivíduos da população e também retardar ou acelerar o desenvolvimento sexual (OSPINA-ÁLVAREZ *et al.*, 2008).

Figura 6- Sistema urogenital.



Fonte: Adaptado de TOKARZ; *et al.*, 2013

Legenda: Presença de oviduto e ovário nas fêmeas e testículos nos machos.

4.2.6 Sistema cardiovascular

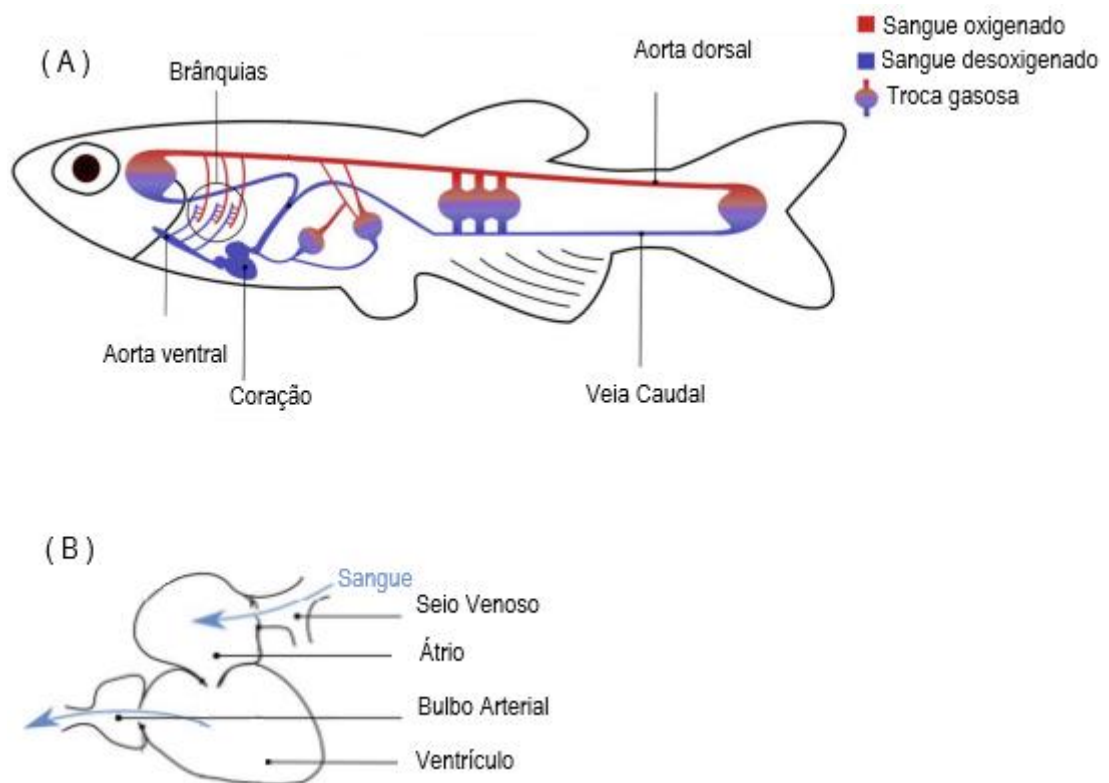
O coração do zebrafish possui duas câmaras chamadas de átrio e ventrículo que estão situadas anteriormente à maior cavidade corporal e ventral ao esôfago. O sangue chega ao coração através de um trato de entrada (seio venoso) e um trato de saída (bulbo arterial). A entrada do sangue desoxigenado inicia no seio venoso e passa para o átrio através da válvula sino atrial. Com a contração do átrio e a dilatação do ventrículo, forçam o sangue para o ventrículo através da válvula atrioventricular. O ventrículo, por sua vez, sofre uma contração que gera uma pressão relativamente alta, bombeando o sangue para o bulbo arterial. (MENKE *et al.*, 2011).

O bulbo arterial confere um fluxo constante e contínuo de sangue aos arcos branquiais, que são os locais principais de oxigenação sanguínea nos adultos. A

partir deste ponto, o sangue é distribuído, através da aorta dorsal, para o resto do corpo (Figura 7) (DAMMSKI *et al.*, 2011).

O desenvolvimento do coração começa a partir de cinco horas após a fertilização, os progenitores cardíacos estão presentes nas zonas marginais laterais do embrião em estágio de clivagem (BAKKERS, 2011). Os embriões de zebrafish podem sobreviver aos primeiros sete dias de seu desenvolvimento sem um sistema cardiovascular funcional, recebendo oxigênio por difusão passiva através da pele (STAINIER, 2001).

Figura 7- Sistema cardiovascular.



Fonte: Adaptado de HOAREAU; *et al.*, 2022.

Legenda: Em (A) O coração bombeia sangue desoxigenado para a aorta ventral, que distribui para as artérias branquiais aferentes, levando a brânquias. Uma vez oxigenado, o sangue é drenado para artérias branquiais eferentes, para então ser coletado na artéria dorsal, que supre as partes anterior e posterior do peixe. As trocas são feitas em capilares e o sangue desoxigenado é devolvido ao coração para um novo ciclo. (B) Coração do zebrafish ilustrando suas quatro cavidades e a direção do sangue indicada pelas setas azuis.

4.2.7 Sistema nervoso e sensorial

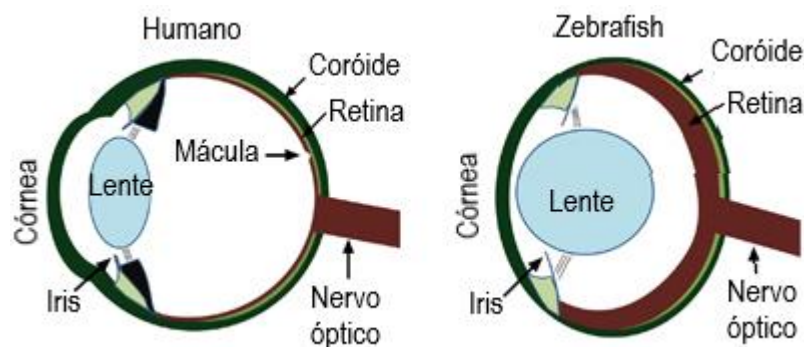
O olho do zebrafish é semelhante ao dos humanos em sua morfologia, fisiologia, expressão gênica e função (Figura 8) (SANTORIELLO *et al.*, 2012). Por apresentarem olhos grandes em relação ao tamanho total do seu corpo, torna-se um ótimo modelo durante a embriogênese inicial e apresentam respostas positivas no período de 72h após a fertilização (hpf), isso acontece quando a retina do zebrafish se assemelha à morfologia da retina adulta que é anatomicamente e funcionalmente semelhantes aos humanos (RICHARDSON *et al.*, 2016).

Em peixes adultos, o som é sentido através das contribuições combinadas dos otólitos, bexiga natatória e linha lateral (FAVRE-BULLE; *et al.*, 2020).

O zebrafish não possui um órgão auditivo como a cóclea, mas apresenta órgãos otolíticos vestibulares semelhantes aos dos mamíferos, como o sáculo e utrículo (Figura 9), (URIBE; *et al.*, 2013), eles podem detectar frequências auditivas entre 100 Hz e 4000 Hz (HIGGS; *et al.*, 2002). Além do órgão auditivo, os zebrafish possuem um segundo órgão mecanossensorial a linha lateral, que consiste em neuromastos que residem ao longo da cabeça e do corpo (Figura 10) (KALMIJN, 1989). Esse mecanismo está envolvido em uma série de comportamentos, incluindo fuga de predadores, formação de cardumes e reprodução (DAMMSKI *et al.*, 2011).

Além de regular a flutuabilidade, a bexiga natatória se expande e comprime à medida que as ondas de pressão passam, essas vibrações são retransmitidas para o ouvido através do ossículo weberiano (FAVRE-BULLE; *et al.*, 2020).

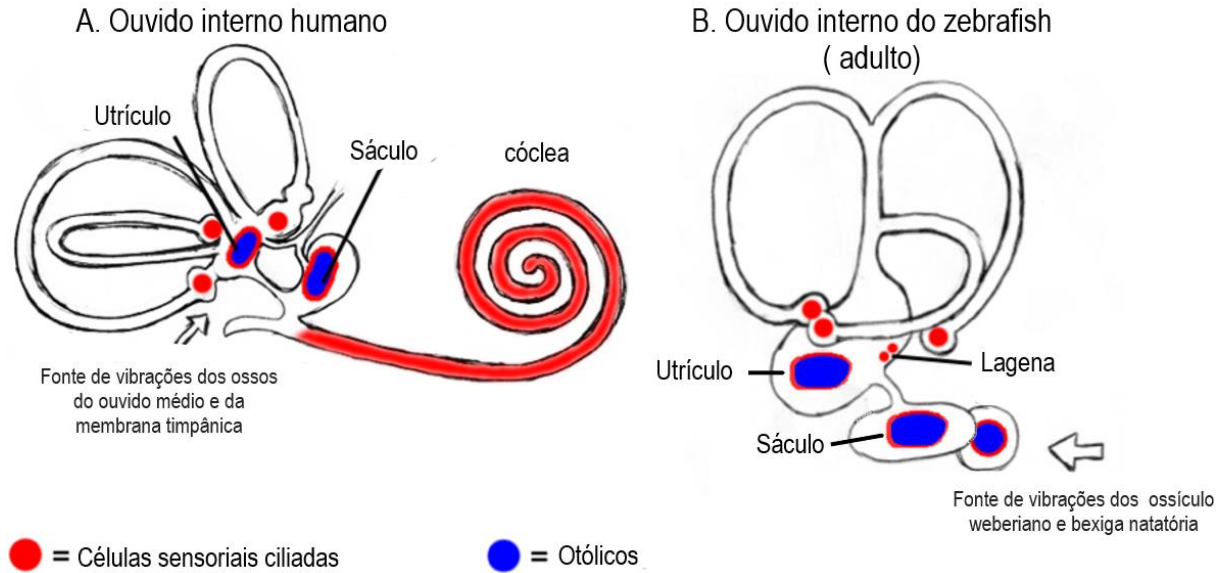
Figura 8- Representação esquemática do olho.



Fonte: Adaptado de CHHETRI; *et al.*, 2014

Legenda: Comparação do olho humano e do zebrafish. Os olhos humanos e do zebrafish diferem principalmente no formato da lente e no espaço entre a lente e a retina.

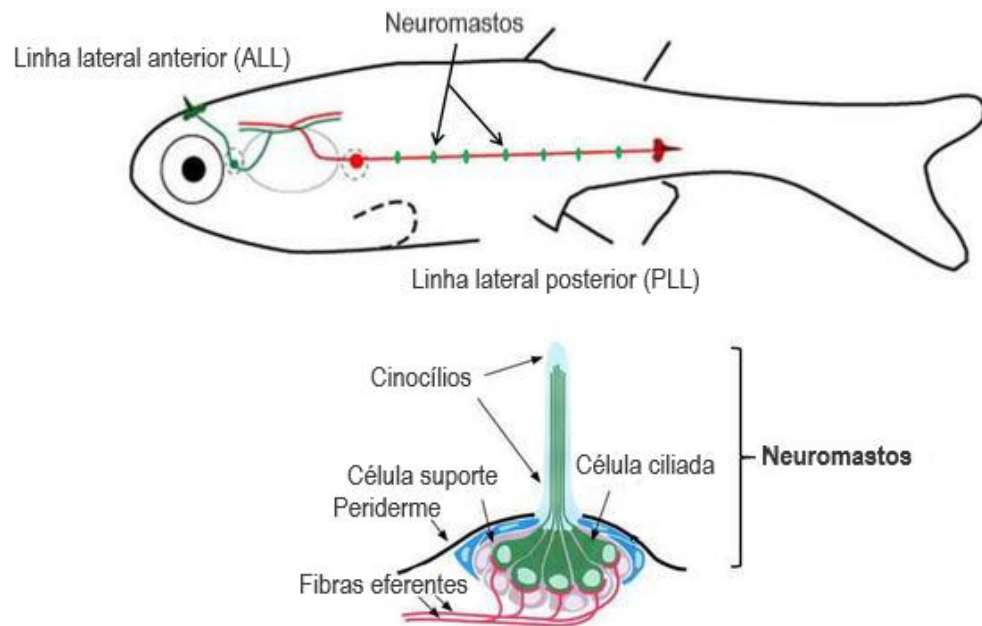
Figura 9- Órgão auditivo.



Fonte: Adaptado de SPYCHALLA, 2014

Legenda: Em (A) ouvido interno humano. (B) ouvido interno do zebrafish adulto. A localização das células sensoriais ciliadas está indicada em vermelho; as localizações dos otólitos estão indicadas em azul. A sensação auditiva é realizada pela cóclea em humanos e pelo sáculo e lagena no zebrafish. Os seres humanos e o zebrafish usam os órgãos maculares do utrículo e do sáculo para detectar a aceleração linear como parte de seus sistemas vestibulares.

Figura 10 - Linha lateral.



Fonte: Adaptado de NASRI; *et al.*,2022

Legenda: Geralmente, a linha lateral é subdividida em duas, a linha lateral anterior (ALL) que compreende os neuromastos presentes na cabeça, mandíbula e opérculo, e seus neurônios sensoriais formam o gânglio ALL, rostral à orelha, e a linha lateral posterior (PLL) que contém os neuromastos no tronco e na cauda e seus neurônios sensoriais formam o gânglio PLL, caudal à orelha. Tanto o ALL quanto o PLL são compostos por diversas filiais.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O zebrafish tem mostrado que é um modelo promissor para estudar diversas doenças. Características como manutenção de baixo custo, alta prolificidade, fecundação externa, transparência de embriões e larvas e rápido desenvolvimento, torna esse modelo mais atrativo. Através dos dados levantados, nota-se que o zebrafish pode contribuir significativamente para a prevenção e controle de muitas doenças, pois compartilham uma alta similaridade com os humanos.

REFERÊNCIAS¹

- ALVARADO, Alejandro Sánchez; TSONIS, Panagiotis A.. Bridging the regeneration gap: genetic insights from diverse animal models. **Nature Reviews Genetics**, [S.L.], v. 7, n. 11, p. 873-884, nov. 2006.
- BAKKERS, J. Zebrafish as a model to study cardiac development and human cardiac disease. **Cardiovascular Research**, [S.L.], v. 91, n. 2, p. 279-288, 19 maio 2011.
- BARRETO, T. de R. **Alterações morfofuncionais e metabólicas no teleósteo de água doce matrinxã, *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869) exposto ao organofosforado metil paration (Folisuper 600 BR®)**. 2007. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2007.
- BIRD, Nathan C.; MABEE, Paula M.. Developmental morphology of the axial skeleton of the zebrafish, *Danio rerio* (Ostariophysi: cyprinidae). **Developmental Dynamics**, [S.L.], v. 228, n. 3, p. 337-357, 21 out. 2003.
- BRAUNBECK, Thomas; LAMMER, Eva. Fish embryo toxicity assays. **German Federal Environment Agency**, v. 298, p. 7-119, 2006.
- CHHETRI, J; JACOBSON, G; GUEVEN, N. Zebrafish—on the move towards ophthalmological research. **Eye**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 367-380, 7 fev. 2014.
- DAMMSKI, A.P. *et al.* Zebrafish: **manual de criação em biotério**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2011.
- FAVRE-BULLE, Itia A.; TAYLOR, Michael A.; MARQUEZ-LEGORRETA, Emmanuel; VANWALLEGHEM, Gilles; POULSEN, Rebecca E.; RUBINSZTEIN-DUNLOP, Halina; SCOTT, Ethan K.. Sound generation in zebrafish with Bio-Opto-Acoustics. **Nature Communications**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-8, 30 nov. 2020.
- FERREIRA, Lydia Masako; HOCHMAN, Bernardo; BARBOSA, Marcus Vinícius Jardim. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta Cirurgica Brasileira**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 28-34, 2005.
- FERRERI, F.; NICOLAIS, C.; BOGLIONE, C.; BMERTOLINE, B.. Skeletal characterization of wild and reared zebrafish: anomalies and meristic characters. **Journal Of Fish Biology**, [S.L.], v. 56, n. 5, p. 1115-1128, maio 2000.
- FUKUSHIMA, Hirla; BAILONE, R. L.; BAUMGARTNER, I.; BORRA, R. C.; CORREA, T.; AGUIAR, L.K. de; JANKE, H.; ROÇA, R.; SETTI, P.G. Potenciais usos do modelo animal Zebrafish *Danio rerio* em pesquisas na Medicina Veterinária. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do Crmv-Sp**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 3-4, 1 jun. 2020.

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

HANSEN, Anne; REUTTER, Klaus; ZEISKE, Eckart. Taste bud development in the zebrafish, *Danio rerio*. **Developmental Dynamics**, [S.L.], v. 223, n. 4, p. 483-496, 21 mar. 2002.

HIGGS, Dennis M.; SOUZA, Marcy J.; WILKINS, Heather R.; PRESSON, Joelle C.; POPPER, Arthur N.. Age- and Size-Related Changes in the Inner Ear and Hearing Ability of the Adult Zebrafish (*Danio rerio*). **Jaro - Journal Of The Association For Research In Otolaryngology**, [S.L.], v. 3, n. 2, p. 174-184, 1 jun. 2002.

HOAREAU, Marie; KHOLTI, Naïma El; DEBRET, Romain; LAMBERT, Elise. Zebrafish as a Model to Study Vascular Elastic Fibers and Associated Pathologies. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 2102, 14 fev. 2022.

KALMIJN, Ad. J.. Functional Evolution of Lateral Line and Inner Ear Sensory Systems. **The Mechanosensory Lateral Line**, [S.L.], p. 187-215, 1989.

LAWRENCE, Christian. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): a review. **Aquaculture**, [S.L.], v. 269, n. 1-4, p. 1-20, set. 2007.

LEPRÉVOST, A.; SIRE, J.-Y.. Architecture, mineralization and development of the axial skeleton in Acipenseriformes, and occurrences of axial anomalies in rearing conditions; can current knowledge in teleost fish help? **Journal Of Applied Ichthyology**, [S.L.], v. 30, n. 4, p. 767-776, 25 jul. 2014.

LIN, Jinxing; CHEN, Qiusheng; HU, Jianhua. Digestive Tract. **Color Atlas Of Zebrafish Histology And Cytology**, [S.L.], p. 31-81, 2022.

LIN, Jinxing; CHEN, Qiusheng; HU, Jianhua. Respiratory System. **Color Atlas Of Zebrafish Histology And Cytology**, [S.L.], p. 113-130, 2022.

MENKE, Aswin L.; SPITSBERGEN, Jan M.; WOLTERBEEK, Andre P. M.; WOUTERSEN, Ruud A.. Normal Anatomy and Histology of the Adult Zebrafish. **Toxicologic Pathology**, [S.L.], v. 39, n. 5, p. 759-775, 2 jun. 2011.

MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L; RIBEIRO, RP.; ZIMMERMANN, S. 17 **Fundamentos na moderna aquicultura**. Canoas: ULBRA, 2001. 200p.

NASRI, Ahmed; AÏSSA, Patricia; MAHMOUDI, Ezzeddine; BEYREM, Hamouda; PERRIER, Véronique. Endocrine Disruptor Impact on Zebrafish Larvae: posterior lateral line system as a new target. **Environmental Sciences**, [S.L.], p. 3-3, 13 abr. 2022.

OSPINA-ÁLVAREZ, Natalia; PIFERRER, Francesc. Temperature-Dependent Sex Determination in Fish Revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. **Plos One**, [S.L.], v. 3, n. 7, p. 28-37, 30 jul. 2008.

RICHARDSON, R; TRACEY-WHITE, D; A WEBSTER,; MOOSAJEE, M. The zebrafish eye—a paradigm for investigating human ocular genetics. **Eye**, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 68-86, 9 set. 2016.

RIVERO-WENDT CLG; MATIAS, Rosemary; NASCIMENTO, Giovana Coutinho Zulin do; HEREDIA-VIEIRA, Silvia Cristina; SANTOS, Magno Rafael Miranda; PINTO JÚNIOR, Osvaldo Borges. Zebrafish: recomendações de manutenção em laboratório. **Uniciências**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 141-145, 23 fev. 2021.

SANTORIELLO, Cristina; ZON, Leonard I.. Hooked! Modeling human disease in zebrafish. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 122, n. 7, p. 2337-2343, 2 jul. 2012.

SILVEIRA, Themis Reverbel da; SCHNEIDER, Ana Claudia; HAMMES, Thais Ortiz. Zebrafish: modelo consagrado para estudos de doenças humanas. **Ciência e Cultura**, [S.L.], v. 64, n. 2, p. 4-5, jun. 2012.

SPENCE, R.; GERLACH, G.; LAWRENCE, C. *et al.* The behavior and ecology of the zebrafish *Danio rerio*. **Biological Reviews**, London, v. 83, n. 1, p. 13-34, Feb 2008.

SPYCHALLA, Luke David. Zebrafish as a model for determining the mechanisms causing deafness in MYH9-related disease. **Semantic scholar**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 21, agosto. 2014.

STAINIER, Didier Y. R. Zebrafish genetics and vertebrate heart formation. **Nature Reviews Genetics**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 39-48, jan. 2001.

STREISINGER, George; WALKER, Charline; DOWER, Nancy; KNAUBER, Donna; SINGER, Fred. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). **Nature**, [S.L.], v. 291, n. 5813, p. 293-296, maio 1981.

TOKARZ, Janina; MÖLLER, Gabriele; ANGELIS, Martin Hrabě de; ADAMSKI, Jerzy. Zebrafish and steroids: what do we know and what do we need to know?. **The Journal Of Steroid Biochemistry And Molecular Biology**, [S.L.], v. 137, p. 165-173, set. 2013.

URIBE, Phillip M.; SUN, Huifang; WANG, Kevin; ASUNCION, James D.; WANG, Qi; CHEN, Chien-Wei; STEYGER, Peter S.; SMITH, Michael E.; MATSUI, Jonathan I.. Aminoglycoside-Induced Hair Cell Death of Inner Ear Organs Causes Functional Deficits in Adult Zebrafish (*Danio rerio*). **Plos One**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 58755, 22 mar. 2013.