

Potenciais usos do modelo animal *Zebrafish* *Danio rerio* em PESQUISAS NA MEDICINA VETERINÁRIA

Potential uses of the animal model Zebrafish Danio rerio in Veterinary Medicine researches

Hirla Fukushima¹

Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR)
Rodovia Washington Luiz, s/n, São Carlos, SP, CEP: 13565-905

E-mail: hirlafukushima@gmail.com

BAILONE, R.L.^{2,3}; BAUMGARTNER, I.¹; BORRA, R.C.¹; CORREA, T.¹;
DE AGUIAR, L.K.⁴; JANKE, H.¹; ROÇA, R.²; SETTI, P.G.¹

Como citar: FUKUSHIMA, Hirla et al. 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**, São Paulo, v.18, n. 1, 2020. [Doi.10.36440/recmvz.v18i1.38049](https://doi.org/10.36440/recmvz.v18i1.38049)

Cite as: FUKUSHIMA, Hirla et al. Potential uses of the animal model *Zebrafish Danio rerio* in research in Veterinary Medicine. **Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP, São Paulo**, v.18, n.1, 2020. [Doi.10.36440/recmvz.v18i1.38049](https://doi.org/10.36440/recmvz.v18i1.38049)

Resumo

Zebrafish (*Danio rerio*) é um proeminente organismo utilizado como modelo para a avaliação da segurança e eficácia de novos compostos na saúde animal de maneira rápida e econômica. Considerando que, anualmente, mais de mil novas substâncias são introduzidas no mercado para o desenvolvimento de produtos como vacinas, medicamentos, aditivos alimentares e agroquímicos, o objetivo deste artigo é apresentar uma revisão do emprego do *Zebrafish* como modelo animal destinado a avaliação da eficácia e da biotoxicidade de compostos em pesquisas em Medicina Veterinária. Diversos estudos confirmam que os perfis entre *Zebrafish* e mamíferos são surpreendentemente semelhantes, sendo que sua transparência, fertilização externa, pequeno porte e curto ciclo de vida permitem a avaliação direta *in vivo* e em tempo real dos (i) efeitos de compostos químicos no desenvolvimento animal, (ii) eficácia de novas drogas no tratamento de doenças específicas, (iii) eficácia e segurança no desenvolvimento de vacinas contra doenças infecciosas, (iv) direcionamento de tratamento do câncer animal de forma direcionada e específica. Desta forma, a praticidade e eficiência deste modelo animal nas pesquisas pode acelerar o processo de desenvolvimento de novos compostos veterinários quando comparado com pesquisas realizadas em outros modelos animais, e com maior valor preditivo e informativo que pesquisas conduzidas com ensaios *in vitro*.

Palavras-chave: *Zebrafish*. Modelo animal. Pesquisa. 3Rs. Medicina Veterinária.

1 Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil

2 Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

3 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, São Carlos, SP, Brasil

4 Harper Adams University, Edgmond, Reino Unido



Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Attribution, que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições desde que o trabalho original seja corretamente citado.

Abstract

Zebrafish (*Danio rerio*) is an excellent model body to evaluate the safety and efficacy of new chemicals in animal health in a fast and economical way. Considering that more than 1,000 new chemicals are marketed annually for the development of products such as vaccines, drugs, food additives and agrochemicals, the purpose of this review is to present the Zebrafish as a model for assessing the efficacy and biotoxicity of compounds in the veterinary scope. Numerous studies have confirmed that profiles between Zebrafish and mammals are surprisingly similar, and their transparency, external fertilization, small size and short life cycle allow direct *in vivo* and real-time evaluation of (i) effects of chemical compounds in the development of animals, (ii) efficacy of new drugs in the treatment of specific diseases, (iii) efficacy and safety in the development of vaccines against infectious diseases, (iv) directing the treatment of animal cancer in a more targeted and specific way. Therefore, the practicality and efficiency of its use in research can accelerate the process of developing new veterinary and agricultural compounds with less expenses when compared to tests carried out in other animal models and with higher predictive and informative value than *in vitro* tests.

Keywords: Zebrafish. Anima model. Research. 3Rs. Veterinary science.

Introdução

Zebrafish (*Danio rerio*), também conhecido como paulistinha, é um peixe tropical, onívoro, teleósteo de água doce, que alcança cerca de cinco centímetros na fase adulta. Atinge sua maturidade sexual entre três e seis meses, sendo sua fecundação externa. Uma fêmea pode liberar centenas de ovos a cada fecundação e os embriões podem ser analisados com facilidade devido a sua transparência e rápido desenvolvimento. É um importante organismo que pode ser empregado como modelo biológico, que vem ganhando notoriedade na comunidade científica nas últimas décadas pela sua homologia genética com mamíferos e pela sua facilidade de manejo, sendo frequentemente utilizado em pesquisas genéticas, rastreios toxicológicos, desenvolvimento de novos produtos, como fármacos e vacinas, dentre outras possibilidades de uso que serão discutidas ao longo desta revisão.

Estudos na área de Medicina Veterinária normalmente envolvem espécies de murinos, como camundongos e ratos, dentre outras espécies, contudo, frente aos desafios neste início de século, onde muito se fala em sustentabilidade, o modelo animal Zebrafish se apresenta como uma alternativa promissora, respeitando o princípio dos 3Rs (redução, substituição e refinamento). Deste modo, a presente revisão tem o intuito de apresentar este modelo animal para pesquisas em Medicina Veterinária.

Materiais e métodos

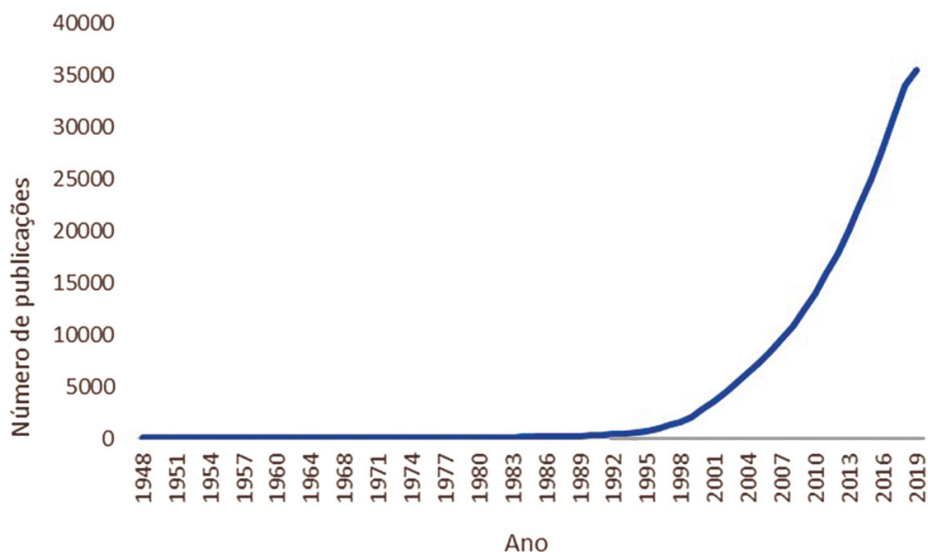
O presente estudo baseou-se na revisão bibliográfica de 57 publicações, dentre livros e artigos científicos divulgados em periódicos nacionais e internacionais com alto fator de impacto, com ênfase na Medicina Veterinária, sendo extrapolados para as áreas de ciências biológicas e saúde humana, por meio de consultas nas bases de dados da Science Direct, Google Acadêmico e SciELO (Scientific Electronic Library Online). Artigos foram selecionados de acordo com a relevância e atualidade, sendo 75% dos artigos utilizados publicados nos últimos cinco anos e 91% publicados nos últimos 10 anos.

Discussão

A) Zebrafish como modelo animal e suas vantagens:

O uso do modelo Zebrafish em pesquisas científicas básicas e aplicadas tem crescido exponencialmente nos últimos anos (Figura1). Por ser mais prático, eficiente e barato que os roedores, é capaz de acelerar e baratear as pesquisas, possibilitando que experimentos possam ser efetivados em meses com muito menos recursos do que levaria anos para ser realizado com modelos murinos (ZORZETTO; GUIMARÃES, 2013).

Figura 1. Número de publicações por ano usando a palavra-chave “zebrafish”



Fonte: Adaptado de Pubmed.

Devido as suas vantagens experimentais específicas em relação a outros modelos animais, o uso do Zebrafish tem sido amplamente difundido nas pesquisas científicas internacionais, e atualmente é considerada um recurso peculiar como modelo animal (Figura 2). Atributos como homologia genética, anatômica e fisiológica aos mamíferos, fertilização externa, elevado número de progênes, transparência das larvas, pequeno porte e rápido desenvolvimento facilitam as abordagens fenotípicas em larga escala, ao mesmo tempo em que mantém a capacidade de resposta aos 3Rs (CORNET; DI DONATO; TERRIENTE, 2018). Assim, a utilização do modelo Zebrafish permite a substituição, redução e o refinamento do uso de mamíferos nas pesquisas, bem como, a redução de problemas relacionados ao bem-estar destes animais, já que os mesmos passariam a ser utilizados apenas como modelos confirmatórios dos resultados positivos previamente observados no Zebrafish.

Figura 2. Características de modelos animais amplamente utilizados: *zebrafish*, primata, camundongo e pintos

	 Zebrafish	 Primata	 Rato	 Pinto
Manipulação	Fácil	Difícil	Difícil	Moderado
Homologia genética	70%	96-98%	75%	62%
Rápido desenvolvimento	Sim	Não	Não	Sim
Transparência	Sim	Não	Não	Não
Número de embriões	100-600	1-2	~10	1-2
Modelos transgênicos	Muitos	Pouco	Muitos	Pouco
Custo de criação	Barato	Muito caro	Caro	Barato

Fonte: Lee et al. (2017).

Como um modelo vertebrado, o Zebrafish compartilha muitas características anatômicas com os mamíferos (rins, cérebro, fígado, intestino, coração, coluna vertebral, olhos, boca, ouvidos etc.), que embora

tenham adaptações específicas à vida aquática, a maioria dos órgãos possuem funções e fisiologia bem conservadas e com rápido desenvolvimento, aparecendo 36 horas após a fecundação, precursores de todos os principais órgãos, tornando-o um excelente modelo para pesquisas biomédicas (MACRAE; PETERSON, 2015). Estas semelhanças têm estimulado a comunidade científica a o utilizar como alternativa aos mamíferos em diferentes áreas do conhecimento que dependem de testes biológicos para serem elucidados tais como: modulação de doenças, rastreamento de drogas, identificação de alvos, farmacologia, toxicologia, fisiologia e etologia (GHENO et al., 2016).

O modelo Zebrafish já ilustrou diversas vezes as capas das principais revistas científicas do mundo, indicando o quão surpreendente são os seus atributos e a sua capacidade de refinar os resultados das pesquisas (Figura 3).

Figura 3. Zebrafish em destaque em capas das principais revistas científicas

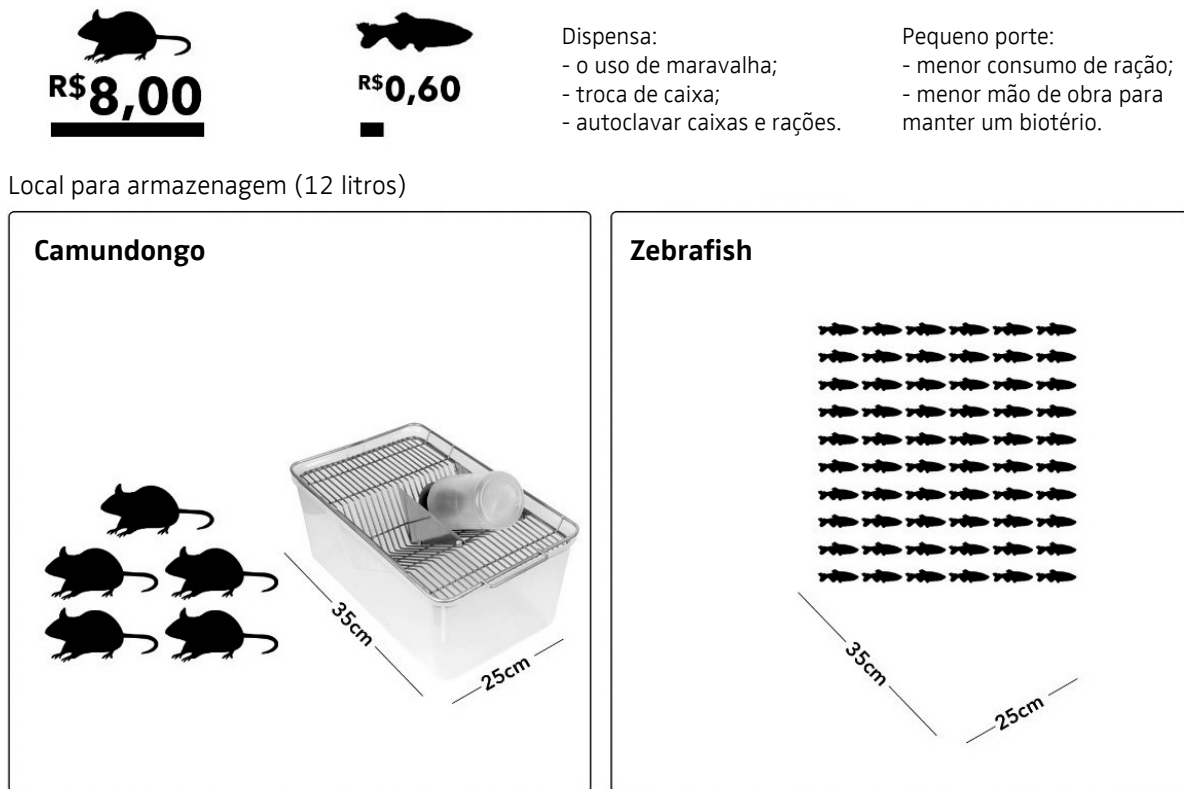


Fonte: Autoria própria (2019).

O sequenciamento do seu genoma em 2013 demonstrou que o Zebrafish possui mais de 70% de homologia genética em relação aos humanos (HOWE et al., 2013), muito semelhante aos ratos, que possuem 75% de homologia (LEE et al., 2017), sugerindo que patologias de mamíferos podem ser modeladas nestes animais.

Uma das vantagens que tem tornado o Zebrafish um modelo de destaque nos principais centros de pesquisa do mundo, diz respeito ao seu custo de manutenção diário. Devido ao seu pequeno porte (adulto mede de 3 a 5 centímetros), no mesmo espaço em que são mantidos cinco camundongos, podem ser mantidos 60 exemplares de Zebrafish (cinco animais adultos/litro de água). Com isto, recursos com infraestrutura, mão de obra e insumos, como ração e maravalha, são reduzidos drasticamente. Estima-se que para manutenção diária de um exemplar de camundongo seja necessário cerca de R\$8,00, enquanto que para um exemplar de Zebrafish, apenas R\$0,60 (ZORZETTO; GUIMARÃES, 2013) (Figura 4).

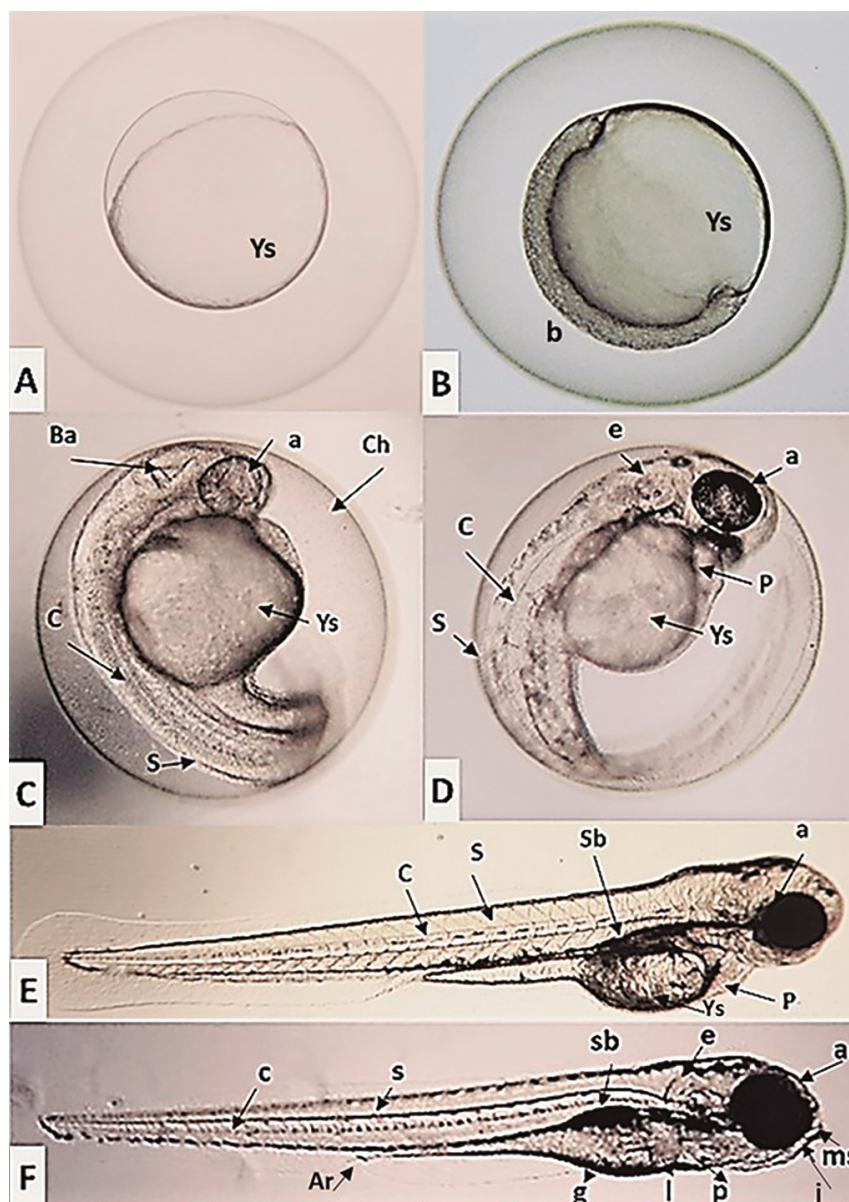
Figura 4. Comparação do gasto de manutenção do modelo Zebrafish com o modelo murinho



Fonte: Zorzetto; Guimarães (2013).

A fertilização externa do Zebrafish é outro atributo excepcional que o tornou um vertebrado geneticamente manipulável a um nível apenas visto antes com a *Drosophila melanogaster* (LIESCHKE; CURRIE, 2007). Sua alta fecundidade e curto ciclo reprodutivo garantem a produção de centenas de embriões diariamente, o que viabiliza o uso de inúmeros grupos experimentais e grandes tamanhos de amostras durante a triagem fenotípica em larga escala, proporcionando grande confiabilidade estatística aos resultados. De acordo com os regulamentos éticos internacionais, estudos com larvas de Zebrafish com até cinco dias pós-fecundação (d.p.f.) são considerados modelos *in vitro* (Diretiva 2010/63/UE) e são aceitos como uma alternativa aos ensaios em animais (CORNET et al., 2017). Considerando que 90% das pesquisas com modelo Zebrafish são realizadas com embriões e larvas com até cinco d.p.f., o seu uso está de acordo com o princípio dos 3Rs, conforme exigido por uma multiplicidade de regulamentações nacionais e internacionais, e a sua aplicação resulta na redução de tempo e recursos quando comparado com emprego de outros modelos animais, além de fornecer maior valor informativo e preditivo quando comparado aos resultados *in vitro* (MACRAE; PETERSON, 2015).

Figura 5. Larvas e embriões de Zebrafish, transparentes permitem o acesso a patologias em desenvolvimento *in vivo* e em tempo real

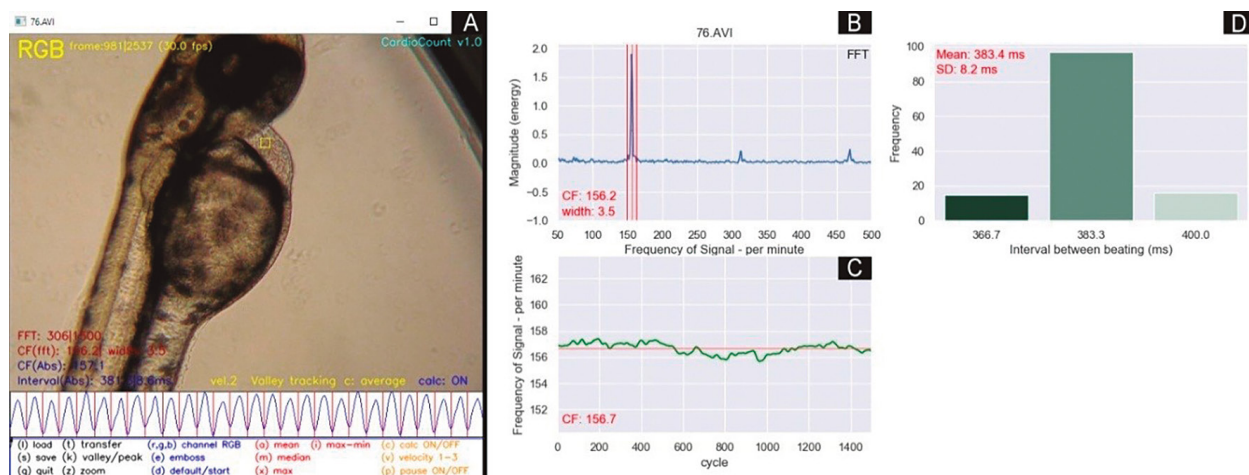


Fonte: Bailone et al. (2019).

Legenda 5. (A) 0 horas pós fertilização (h.p.f.); (B) 5.h.p.f.; (C) 24h.p.f.; (D) 48h.p.f.; (E) 72h.p.f.; (F) 96h.p.f. (Ys) Saco vitelínico; (b) blástula; (a) olho; (Ba) cérebro; (ch) córion; (c) corda; (s) somites; (e) ouvido; (p) pericárdio; (Sb) bexiga natatória; (l) fígado; (g) intestino; (ms) fenda da boca; (j) mandíbula; (Ar) região anal

A transparência de embriões e larvas de Zebrafish possibilita a visualização em tempo real de patologias em desenvolvimento, sendo essa capacidade de examinar o início e o curso de um processo patológico *in vivo* e em tempo real uma particularidade deste modelo animal (Figura 5). Desta forma, malformações geradas pela exposição a compostos químicos, medicamentos e vacinas em desenvolvimento podem ser observadas com facilidade. Neste contexto, devido a sua transparência, atualmente há softwares disponíveis capazes de mensurar parâmetros como fisiologia (batimentos cardíacos, fluxo sanguíneo, velocidade do trato intestinal) e comportamento (velocidade de nado, número de movimentos, tempo de inatividade, comportamento compulsivo) por animal avaliado, o que refina a qualidade dos resultados das pesquisas biomédicas (Figura 6).

Figura 6. Telas do software *Cardio Count* v1.0 (ZEBRA Advances, UFSCAR - São Carlos, Brasil) mostrando análise dos batimentos cardíacos das larvas de Zebrafish (A) e gráficos de acompanhamento (B, C e D)



Fonte: Bailone et al. (2019).

Nota: gráficos gerados durante a análise em tempo real e são utilizados como parâmetros individuais de atividade cardíaca de cada larva/embrião.

As larvas de Zebrafish possuem os principais órgãos desenvolvidos e funcionais com apenas cinco dias de vida, portanto, exibem um repertório diverso de processos biológicos em um sistema de órgãos totalmente integrados. Dor, sedação, metástase tumoral, tônus vascular e motilidade intestinal são exemplos fenotípicos relevantes a doenças que são observáveis no Zebrafish, mas totalmente inacessíveis em abordagens *in vitro* (MACRAE; PETERSON, 2015). Desta forma, a fisiologia das larvas de Zebrafish com cinco d.p.f. recapitulam as características do metabolismo de drogas dos mamíferos (absorção, metabolismo e excreção), o que indica que são de fato um conjunto experimental completo capaz de gerar dados biologicamente relevantes com maior rapidez (LEE et al., 2017).

Neste sentido, pesquisas em todo mundo têm empregado Zebrafish transgênicos com órgãos fluorescentes ou modelos de doenças específicas tais como, transtornos hereditários, de doenças adquiridas, doenças metabólicas, de câncer, de infecção, obesidade, inflamação, dentre outros (LIU et al., 2017; SALMI; TAN; COX, 2019) e com isto tem contribuído para diversos exemplos bem sucedidos de descoberta de drogas baseada na avaliação fenotípica (MACRAE; PETERSON, 2015), demonstrando o quanto este modelo é particularmente capaz de refinar a qualidade dos resultados das pesquisas em diversas áreas (LIU et al., 2017), inclusive em Medicina Veterinária, durante a avaliação de segurança de novos compostos químicos e desenvolvimento de novos medicamentos ou vacinas contra doenças específicas dos animais de criação ou pets.

b) Uso do modelo Zebrafish em pesquisas na área de Medicina Veterinária

De acordo com BAILONE et al. (2020a), diversas pesquisas de patologias no âmbito animal vêm sendo realizadas com o modelo Zebrafish com o intuito de elucidação de processos infecciosos e respostas imunológicas do hospedeiro frente ao patógeno, como por exemplo, influenza vírus (GABOR et al., 2014), shigellose (DUGGAN; MOSTOWY, 2018), tuberculose (MANTILLA GALINDO; OCAMPO; PATARROYO, 2019), salmonelose (HOWLADER et al., 2016), streptococose (PATTERSON et al., 2012), dentre uma série de outras doenças de importância na área de Medicina Veterinária, não somente bacterianas e virais, mas também fúngicas, genéticas e degenerativas.

As características do modelo Zebrafish também o tornaram uma verdadeira alternativa para ensaios de avaliação de toxicidade de compostos em desenvolvimento (Tabela 1). Este teleosteo possui grande sensibilidade quando exposto a produtos químicos por ser capaz de absorver de forma rápida os compostos que são diretamente adicionados na água e acumulá-los em diferentes tecidos. Neste sentido, vários testes de toxicidade e efeitos farmacológicos já foram descritos (DUCHARME et al., 2015; LEE et al., 2017; CORNET et al., 2017). Atualmente, há diversas normas padronizadas e

validadas pela Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) acerca de ensaios toxicológicos alternativos com uso do Zebrafish, sendo avaliações de toxicidade aguda, crônica, endócrina e reprodutiva alguns exemplos de diretrizes publicadas pela OECD. Desta forma, a utilização do modelo Zebrafish em estudos de triagens tem possibilitado uma redução do uso de animais mamíferos e acelerado os resultados das pesquisas. Assim, este modelo já foi utilizado no rastreamento toxicológico de diversas substâncias empregadas pela Medicina Veterinária, como para a Dexametasona (medicamento pertencente à classe dos corticosteroides); Ciclosporina A (droga imunossupressora da classe dos inibidores da calcineurina isolada do fungo *Tolypocladium inflatum*); Acetaminofeno (propriedades analgésicas e antipiréticas); Didemnina B, doxorubicina (droga amplamente utilizada em quimioterapia antineoplásica); Aspirina (ácido acetilsalicílico); Amiodarona (fármaco do grupo de antiarrítmicos de amplo espectro de classe III e potente vasodilatador); Tacrina (medicamento usado como inibidor reversível da acetilcolinesterase); dentre outros compostos (BAILONE et al., 2019).

Diversos modelos Zebrafish para doenças específicas de mamíferos também têm sido desenvolvidos e podem ser aplicados com facilidade no desenvolvimento de novas drogas e/ou tratamentos inovadores no âmbito veterinário, como modelo Zebrafish para *diabetes mellitus* tipo 2 (ZANG et al., 2017); modelos Zebrafish de doenças tumorais como câncer de pâncreas, melanoma, câncer do trato gastrointestinal, rhabdomyosarcoma; modelos de desordens hematológicas como porfiria eritropoiética congênita, leucemia linfoblástica aguda, hematocromose, dentre outras (LIU et al., 2017).

No âmbito da segurança alimentar, nos últimos anos, muitos estudos têm sido conduzidos para a avaliação da inocuidade de alimentos de origem animal com o modelo Zebrafish, tais como aditivos e conservantes alimentares, como nitrito e nitrato de sódio, utilizados no preparo de produtos como bacon, presunto, linguiça, salsicha e salame (KESHARI et al., 2016; BAILONE et al., 2019). Também têm sido testados com agroquímicos e antibióticos que deixam resíduos em alimentos caso não respeitados o período de carência, como glifosato (BRIDI et al. 2017), tetraciclina (ZHANG; CHENG; XIN, 2015), cefalosporina (ZHANG et al., 2010), fluoroquinolone (ZHANG et al., 2016), sulfonamidas (LIN; CHEN, Y. Q.; CHEN, W., 2013), amoxicilina, oxitetraciclina (OLIVEIRA et al., 2013), assim como metais pesados comumente encontrados em produtos de origem animal, como mercúrio (GLYNN; NORRGREN; MÜSSENER, 1994), cádmio (ZHANG et al., 2012), chumbo (DAVE; XIU, 1991), arsênio (LI et al. 2016), dentre outros. Deste modo, o modelo Zebrafish é capaz de fornecer informações importantes para a elaboração de alimentos inócuos ao consumo humano e animal.

O Zebrafish também tem sido um modelo de destaque que está em franca expansão no processo de desenvolvimento de vacinas. A vacinação é fundamental para o desenvolvimento de uma produção contínua e sustentável dos animais de produção, assim como uma medida essencial para a realização dos programas de controle e erradicação de diversas doenças dos animais domésticos. Devido as suas vantagens únicas, este modelo tem sido amplamente utilizado em experimentos de vacinação contra patógenos que causam prejuízos na aquicultura no Brasil e ao redor do mundo (BAILONE et al., 2020b), como contra *Aeromonas hydrophila*, bactéria causadora de grandes prejuízos na aquicultura mundial (GUO et al., 2018); *Francisella noatunensis*, bactéria causadora de doença granulomatosa em peixes de água doce e marinhos (LAGOS et al., 2017; BRUDAL et al., 2015); *Flavobacterium columnare*, bactéria intracelular causadora da columnariose (ZHANG et al., 2017); *Streptococcus iniae*, bactéria causadora da maioria das streptococoses em peixes (MEMBREBE et al., 2016); *Edwardsiella tarda* (GUO et al., 2015) e *E. piscicida* (BAO et al., 2019), importantes bactérias patogênicas causadoras da edwardsiellosis; *Vibrio anguillarum*, bactéria causadora da vibriose (BAO et al., 2019; YE; WU; ZHANG, 2016; LIU et al., 2015; ZHANG et al., 2014); rhabdovírus, vírus causador da septicemia viral hemorrágica, uma das mais importantes doenças virais em salmonídeos (KAVALLIAUSKIS et al., 2016; NOVOA et al., 2006); *Piscirickettsia salmonis*, causadora da septicemia rickettsial de salmonídeos (TANDBERG et al., 2017); *Listeria monocytogenes* (DING et al., 2017), dentre outras doenças de importância econômica na piscicultura brasileira e mundial.

De acordo com Bailone et al. (2020b), o emprego do Zebrafish como modelo para o desenvolvimento de vacinas de uso veterinário não está restrito ao âmbito de organismos aquáticos, mas também do desenvolvimento de vacinas com agentes etiológicos que acometem outras espécies de animais, como é o caso da tuberculose, na qual o modelo Zebrafish tem sido empregado para a

identificação pré-clínica de antígenos de vacinas (OKSANEN et al., 2013; MYLLYMÄKI et al., 2018). A infecção por *Mycobacterium marinum* em zebrafish adulto se assemelha a tuberculose humana (MYLLYMÄKI et al., 2017), assim o modelo de infecção por *M. marinum* em zebrafish adulto tem sido usado para a triagem pré-clínica de vacinas contra tuberculose. Adicionalmente, outras espécies de *Micobacterium* também têm sido estudadas, como *M. bovis* (RISALDE et al., 2018; LÓPEZ et al., 2018), espécie em que os bovinos são os principais hospedeiros.

Na área de vacinação, diversos outros patógenos têm sido estudados neste modelo, como *Salmonella* sp. e *Streptococcus* sp. (SARALAHTI, 2019; HOWLADER et al., 2016; SARALAHTI; RAMET, 2015; MILLER; NELLY, 2014), podendo potencializar a dinâmica de desenvolvimento de novas vacinas, e com isso, reduzir o uso indiscriminado de antibióticos nas produções de animais domésticos, contendo o risco a resistências bacterianas.

Outra vertente extremamente importante no uso deste modelo animal é nos estudos de cânceres. Vários modelos de câncer estabelecidos em adultos, juvenis e embriões de Zebrafish fornecem uma oportunidade única para o monitoramento da proliferação do câncer, angiogênese tumoral, metástase, auto renovação de células-tronco cancerosas e resposta a drogas em tempo real e *in vivo* (ZHANG; CHENG; XIN, 2015). O emprego do xenotransplante de células cancerígenas de mamíferos para zebrafish, possibilita a realização de experimentos que avaliam o crescimento tumoral, metástase e angiogênese em apenas uma semana, indicando que este modelo tem um enorme potencial para avaliação adicional da progressão do câncer e descoberta de drogas (KONANTZ et al., 2012).

Atualmente, também têm sido focado o uso do Zebrafish como “avatars” vivos em tratamentos inovadores e personalizados contra o câncer, que tem permitido a triagem de diferentes tipos de drogas para o tratamento de uma determinada célula específica (LESLIE, 2017). Os tumores podem reagir de diferentes maneiras às drogas, e devido a isto, geralmente é utilizado o método de tentativa e erro para determinar qual tratamento funciona melhor para cada paciente em particular. Já com o modelo Zebrafish, é possível avaliar antecipadamente o melhor tratamento a partir do xenoenxerto das células tumorais de animais doentes em embriões de Zebrafish, permitindo que a eficácia de diferentes drogas na redução dos tumores possam ser avaliadas simultaneamente. Deste modo, uma larva pode se tornar um modelo minúsculo do câncer de qualquer animal acometido pela doença. Avatares de câncer semelhantes foram criados com camundongos, mas com o modelo Zebrafish, devido a sua transparência e rápido desenvolvimento, os experimentos podem ser realizados em uma semana, analisando-se crescimento tumoral, angiogênese e metástase, de forma mais rápida e barata.

A transparência ótica do Zebrafish e a disponibilidade de linhagens com células marcadas por fluorescência proporcionam oportunidades atraentes para o entendimento de mecanismos da tumorigênese e para a identificação de novas terapias de uma forma que não pode ser obtida com os roedores. O Zebrafish mostrou-se suscetível a tumores malignos e benignos do cérebro, do sistema nervoso, do sangue, do fígado, do pâncreas, da pele, dos músculos e do intestino. Tumores fluorescentes permitem o reconhecimento do início do tumor, localização e estimativa do volume tumoral. Estes estudos demonstram que o Zebrafish pode permitir a discriminação de tratamentos eficazes e ineficazes, e que eles poderiam prever quais pacientes com câncer teriam recaídas (ASTONE et al., 2017; BAXENDALE; VAN EEDEN; WILKINSON, 2017).

Por fim, a expansão das pesquisas com o emprego do modelo Zebrafish está diretamente ligada ao crescente conhecimento sobre esta espécie. Atualmente, o Zebrafish possui grande importância na pesquisa mundial, o que resultou na criação de um site especializado neste assunto (ZFIN, 2018), onde são depositadas todas as informações necessárias para o seu uso. No Brasil, pesquisadores têm juntado esforços para o estabelecimento deste modelo animal nas pesquisas nacionais. Neste sentido, Universidades e instituições de pesquisa do estado de São Paulo, como UFSCar, EMBRAPA, UNESP, UNICAMP, Unifesp, Instituto Butantan e USP, já contam com o modelo Zebrafish estabelecidos em suas pesquisas e com isso têm se tornado mais competitivas no cenário científico internacional.

Conclusões

O uso do modelo Zebrafish para desenvolvimento e avaliação de eficácia, segurança e rastreio toxicológico de medicamentos, vacinas e agroquímicos no âmbito animal já é uma realidade. Este modelo se comprova eficaz na elucidação da infecção e respostas imunológicas frente a diversos patógenos, e, portanto, tem grande potencial e extrema relevância para pesquisas na área da Medicina Veterinária e ciências biológicas. O Zebrafish apresenta diversas vantagens quando comparado a outros modelos animais, principalmente devido a sua economia em sua criação, alta prolificidade, fecundação externa, transparência de embriões e larvas, rápido desenvolvimento e sua semelhança genética com os mamíferos, sendo uma ferramenta sem precedentes para o crescimento das pesquisas na área de saúde animal. &

Referências

- ASTONE, M. et al. Fishing for cures: the allure of using zebrafish to develop precision oncology therapies. **NPJ Precision Oncology**, v. 1, n. 1, p. 39, 2017.
- BAILONE, R. L. et al. Animal Disease Research Using Zebrafish Model. **Archives of Animal and Poultry Science**, v. 1, n. 4, p. 58-61, 2020a.
- BAILONE, R. L. et al. Zebrafish as an alternative animal model in human and animal vaccination research. **Laboratory Animal Research**, v. 36, n. 13, p. 1-10, 2020b.
- BAILONE, R. L. et al. Zebrafish as animal model for food security research: trends in the animal research. **Food Biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 283-302, 2019.
- BAXENDALE, S.; VAN EEDEN, F.; WILKINSON, R. The power of zebrafish in personalised medicine. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 1007, p. 179-197, 2017.
- BAO, P. Synergistic effect of a combined live *Vibrio anguillarum* and *Edwardsiella piscicida* vaccine in turbot. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 88, p. 84-90, 2019.
- BRIDI, D. et al. Glyphosate and Roundup® alter morphology and behavior in zebrafish. **Toxicology**, v. 392, p. 32-39, 2017.
- BRUDAL, E. et al. Vaccination with outer membrane vesicles from *Francisella noatunensis* reduces development of *francisellosis* in a zebrafish model. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 42, n. 1, p. 50-57, 2015.
- CORNET, C.; DI DONATO, V.; TERRIENTE, J. Combining zebrafish and CRISPR/Cas9: towards a more efficient drug discovery pipeline. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 703, 2018.
- CORNET, C. et al. ZeGlobalTox: an innovative approach to address organ drug toxicity using zebrafish. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, p. 864, 2017.
- DAVE, G.; XIU, R. Toxicity of mercury, copper, nickel, lead, and cobalt to embryos and larvae of zebrafish, *Brachydanio rerio*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.21, n. 1, p. 126-134, 1991.
- DING, C. et al. A potential aquaculture vaccine vector: Evaluation of a double-gene attenuated *Listeria monocytogenes* in zebrafish (*Danio rerio*). **Aquaculture**, v. 479, p. 311-320, 2017.
- DUCHARME, N. A. et al. Comparison of toxicity values across zebrafish early life stages and mammalian studies: implications for chemical testing. **Reproductive Toxicology**, v. 55, p. 3-10, 2015.
- DUGGAN, G. M.; MOSTOWY, S. Use of zebrafish to study Shigella infection. **Disease Models & Mechanisms**, v. 11, n. 2, 2018.
- GABOR, K. A. et al. Influenza A virus infection in zebrafish recapitulates mammalian infection and sensitivity to anti-influenza drug treatment. **Disease Models & Mechanisms**, v. 7, n. 11, p. 1227-1237, 2014.
- GHENO, E. M. et al. Zebrafish in brazilian science: scientific production, impact, and collaboration. **Zebrafish**, v. 13, n. 3, p. 217-225, 2016.
- GLYNN, A. W.; NORRGREN, L.; MÜSSENER, Å. Differences in uptake of inorganic mercury and cadmium in the gills of the zebrafish, *Brachydanio rerio*. **Aquatic Toxicology**, v. 30, n. 1, p. 13-26, 1994.

- GUO, Z. et al. The protective efficacy of four iron-related recombinant proteins and their single-walled carbon nanotube encapsulated counterparts against *Aeromonas hydrophila* infection in zebrafish. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 82, p. 50-59, 2018.
- GUO, C. et al. Live *Edwardsiella tarda* vaccine enhances innate immunity by metabolic modulation in zebrafish. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 47, n. 2, p. 664-673, 2015.
- HOWE, K. et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 498, 2013.
- HOWLADER, D. R. et al. Zebrafish as a novel model for non-typhoidal Salmonella pathogenesis, transmission and vaccine efficacy. **Vaccine**, v. 34, n. 42, p. 5099-5106, 2016.
- KAVAILIAUSKIS, A. et al. Protective effect of a recombinant VHSV-G vaccine using poly (I:C) loaded nanoparticles as an adjuvant in zebrafish (*Danio rerio*) infection model. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 61, p. 248-257, 2016.
- KESHARI, V. et al. Zebrafish as a model to assess the teratogenic potential of nitrite. **JoVE - Journal of Visualized Experiments**, n. 108, e53615, 2016. Disponível em: <https://www.jove.com/video/53615/zebrafish-as-a-model-to-assess-the-teratogenic-potential-of-nitrite>. Acesso em: 7 fev. 2020.
- KONANTZ, M. et al. Zebrafish xenografts as a tool for in vivo studies on human cancer. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1266, n. 1, p. 124-137, 2012.
- LAGOS, L. et al. Immunomodulatory properties of *Concholepas concholepas* hemocyanin against francisellosis in a zebrafish model. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 67, p. 571-574, 2017.
- LEE, K. Y. et al. Zebrafish models for functional and toxicological screening of nanoscale drug delivery systems: promoting preclinical applications. **Bioscience Reports**, v. 37, n. 3, p. SR20170199, 2017.
- LESLIE, M. Zebrafish larvae could help to personalize cancer treatments. **Science**, v. 357, n. 6353, p. 745, 2017.
- LI, C. et al. Metabolomic characterizations of liver injury caused by acute arsenic toxicity in zebrafish. **Plos One**, v. 11, n. 3, e0151225, 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?type=printable&id=10.1371/journal.pone.0151225>. Acesso em: 7 fev. 2020.
- LIESCHKE, G. J.; CURRIE, P. D. Animal models of human disease: zebrafish swim into view. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, n. 5, p. 353-367, 2007.
- LIN, T.; CHEN, Y. Q.; CHEN, W. Impact of toxicological properties of sulfonamides on the growth of zebrafish embryos in the water. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 36, n. 3, p. 1068-1076, 2013.
- LIU, J. et al. CRISPR/Cas9 in zebrafish: an efficient combination for human genetic diseases modeling. **Human Genetics**, v.136, n.1, p.1-12, 2017.
- LIU, X. et al. Profiling immune response in zebrafish intestine, skin, spleen and kidney bath-vaccinated with a live attenuated *Vibrio anguillarum* vaccine. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 45, n. 2, p. 342, 2015.
- LÓPEZ, V. et al. Heat-inactivated *Mycobacterium bovis* protects zebrafish against mycobacteriosis. **Journal of Fish Diseases**, v. 41, n. 10, p. 1515-1528, 2018.
- MACRAE, C. A.; PETERSON, R. T. Zebrafish as tools for drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 10, p. 721, 2015.
- MANTILLA GALINDO, A.; OCAMPO, M.; PATARROYO, M. A. Experimental models used in evaluating anti-tuberculosis vaccines: the latest advances in the field. **Expert Review of Vaccines**, v. 18, n. 4, p. 365-377, 2019.
- MEMBREBE, J. D. et al. Protective efficacy of *Streptococcus iniae* derived enolase against Streptococcal infection in a zebrafish model. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 170, p. 25-29, 2016.
- MILLER, J. D.; NEELY, M. N. Zebrafish as a model host for streptococcal pathogenesis. **Acta Tropica**, v. 91, n. 1, p. 53-68, 2004.
- MYLLYMÄKI, H. et al. Identification of protective postexposure mycobacterial vaccine antigens using an immunosuppression-based reactivation model in the zebrafish. **Disease Models & Mechanisms**, v. 11, n. 3, p. dmm033175, 2018. Disponível em: <https://dmm.biologists.org/content/11/3/dmm033175.abstract>. Acesso em: 7 fev. 2020.

MYLLYMÄKI, H. et al. Identification of novel antigen candidates for a tuberculosis vaccine in the adult zebrafish (*Danio rerio*). **Plos One**, v. 12, n. 7, p. e0181942, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5526617/>. Acesso em: 7 fev. 2020.

NOVOA, B. et al. Zebrafish (*Danio rerio*) as a model for the study of vaccination against viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV). **Vaccine**, v. 24, p. 5806-5816, 2006.

OKSANEN, K. E. et al. An adult zebrafish model for preclinical tuberculosis vaccine development. **Vaccine**, v. 31, n. 45, p. 5202-5209, 2013.

OLIVEIRA, R. et al. Effects of oxytetracycline and amoxicillin on development and biomarkers activities of zebrafish (*noye*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 36, n. 3, p. 903-912, 2013.

PATTERSON, H. et al. Adult zebrafish model of bacterial meningitis in *Streptococcus agalactiae* infection. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 38, n. 3, p. 447-455, 2012.

RISALDE, M.A. et al. Control of mycobacteriosis in zebrafish (*Danio rerio*) mucosally vaccinated with heat-inactivated *Mycobacterium bovis*. **Vaccine**, v. 36, n. 30, p. 4447-4453, 2018.

SALMI, T. M.; TAN, V. W. T.; COX, A. G. Dissecting metabolism using zebrafish models of disease. **Biochemical Society Transactions**, v. 47, n. 1, p. 305-315, 2019.

SARALAHTI, A. **A Zebrafish model for host-pathogen interactions in streptococcal infections**. Tampere, Finland: Tampere University, 2019. (Tampere University Dissertations, 10). Disponível em: <https://trepo.tuni.fi/bitstream/handle/10024/105436/978-952-03-0981-7.pdf?sequence=1>. Acesso em: 5 dez. 2019.

SARALAHTI, A.; RÄMET, M. Zebrafish and streptococcal infections. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 82, n. 3, p. 174-183, 2015.

TANDBERG, J. et al. Membrane vesicles from *Piscirickettsia salmonis* induce protective immunity and reduce development of salmonid rickettsial septicemia in an adult zebrafish model. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 67, p. 189-198, 2017.

The Zebrafish Information Network (ZFIN). Disponível em: <http://zfin.org/>. Acesso em: 5 dez. 2019.

YE, N.; WU, H.; ZHANG, Y. Maternal transfer and protection role in zebrafish (*Danio rerio*) offspring following vaccination of the brood stock with a live attenuated *Vibrio anguillarum* vaccine. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 11, p. 3667-3678, 2016.

ZHANG, D. et al. More than just antibodies: protective mechanisms of a mucosal vaccine against fish pathogen *Flavobacterium columnare*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 71, p. 160-170, 2017.

ZHANG, Y. et al. Toxicity assessment of combined fluoroquinolone and tetracycline exposure in zebrafish (*Danio rerio*). **Environmental Toxicology**, v. 31, n. 6, p. 736-750, 2016.

ZHANG, Q.; CHENG, J.; XIN, Q. Effects of tetracycline on developmental toxicity and molecular responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 4, p. 707-719, 2015.

ZHANG, B. Zebrafish xenotransplantation as a tool for *in vivo* cancer study. **Familial Cancer**, v. 14, n. 3, p. 487-493, 2015.

ZHANG, H. et al. Th17-like immune response in fish mucosal tissues after administration of live attenuated *Vibrio anguillarum* via different vaccination routes. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 37, n. 2, p. 229-238, 2014.

ZHANG, W. et al. Toxicological effect of joint cadmium selenium quantum dots and copper ion exposure on zebrafish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 9, p. 2117-2123, 2012.

ZHANG, J. et al. Investigation of the toxic functional group of cephalosporins by zebrafish embryo toxicity test. **Archiv der Pharmazie**, v. 343, n. 10, p. 553-560, 2010.

ZORZETTO, R.; GUIMARÃES, M. Um peixe modelo. **Pesquisa FAPESP**, n. 209, 2013. Disponível em: https://www.revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2013/07/016-021_CAPA_cobaias_209.pdf. Acesso em: 5 dez. 2019.

Recebido: 03 de maio de 2019. Aceito: 13 de fevereiro de 2020