

(54) Nowy kierunek badań naukowych w okulistyce z wykorzystaniem modelu *Danio rerio* (zebrafish)

Biological model of Danio rerio (zebrafish) – a new research trend in ophthalmology

Katarzyna Danieluk¹, Agnieszka Jakubaszek², Jerzy Mackiewicz¹, Anna Święch-Zubilewicz¹

¹ Klinika Chirurgii Siatkówki i Ciała Szklonego Katedry Okulistyki, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Kierownik: dr hab. n. med. Jerzy Mackiewicz

² Ośrodek Medycyny Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Kierownik: dr n. med. Mirosław Łańcut

Streszczenie: Dynamiczny rozwój medycyny sprawił, że mamy do dyspozycji coraz nowsze metody diagnostyczne i terapeutyczne. Aby móc odwzorować złożoność procesów biologicznych zachodzących u człowieka, naukowcy wciąż poszukują idealnego modelu biologicznego. Spośród zwierząt laboratoryjnych na pewno na wyróżnienie zasługuje ryba akwaryjna danio pęgowany, zwany też *Danio rerio* albo zebrafish. W artykule zaprezentowano przykłady wykorzystania zebrafish w medycynie, ze szczególnym uwzględnieniem okulistyki.

Słowa kluczowe: *Danio rerio*, zebrafish, okulistyka.

Summary: Dynamic progress in medicine has enabled availability of new diagnostic methods, improved drugs and therapies. However, we are still searching for a perfect model to reflect the complexity of physiological and pathological processes in a human body. Among laboratory animals, an aquatic species of zebrafish (lat. *Danio rerio*) has become an emergent biological model. The paper presents examples of using zebrafish in medical research, especially in ophthalmology.

Key words: *Danio rerio*, zebrafish, ophthalmology.

Wstęp

Danio pęgowany (*Danio rerio*, zebrafish) jest obecnie często wykorzystywanym modelem w badaniach eksperymentalnych w okulistyce, a także w innych dziedzinach medycyny takich jak neurologia, hematologia i onkologia, choroby zakaźne oraz kardiologia, a także w badaniach nad chorobami dziedzicznymi.

Danio rerio

Ta ryba wywodzi się z rodziny karpiowatych i osiąga około 4–4,5 cm długości. Samce różnią się od samic bardziej pomarańczowym ubarwieniem oraz smuklejszą budową ciała. W warunkach naturalnych te ryby bytują w wodach rejonu oceanu indyjskiego (1). Na wykorzystywanie *Danio rerio* w charakterze modelu laboratoryjnego kręgowców wpłynęło wiele czynników.

Danio pęgowany ma ponad 70% genów zbliżonych do genów ludzkich, to umożliwia przewidywanie z dużym prawdopodobieństwem zjawisk zachodzących w organizmie ludzkim i ich badanie (1, 2). Kolejną zaletą *Danio rerio* są jej cechy hodowlane. Ten gatunek ma krótki cykl rozwojowy, a osiągnięcie dojrzałości płciowej zajmuje mu około 3–4 miesięcy (ryc. 1.).

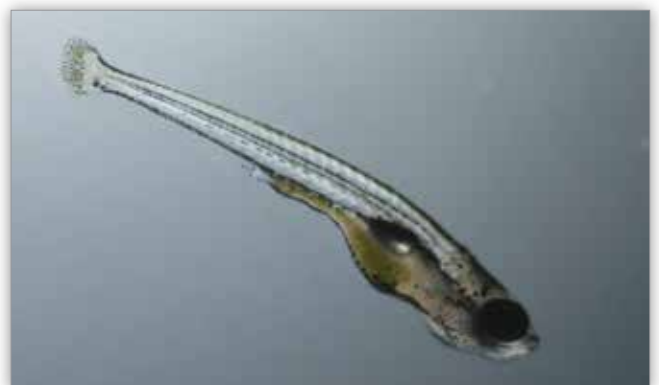
Z tarła jednej pary można uzyskać około 200–300 jajeczek ikry na tydzień. Dzięki temu, że ciało *Danio rerio* na wczesnych etapach rozwoju jest przezroczyste, a większość organów (takich jak jelita, wątroba, serce i oko) rozwija się w ciągu tygodnia, jest możliwa wnikliwa obserwacja organogenezy (ryc. 2.).

Zarodki *Danio rerio* mają niewielkie rozmiary, dlatego z łatwością można je umieścić na płytkach do mikromiareczkowania.



Ryc. 1. Dorosły osobnik *Danio rerio*.

Fig. 1. *Danio rerio* – an adult form.



Ryc. 2. *Danio rerio* – larwa (oglądana pod mikroskopem Stereo discover. v8, Carl Zeiss Microscopy GmbH).

Fig. 2. *Danio rerio* – a larva (watched under a microscope Stereo discover. v8, Carl Zeiss Microscopy GmbH).

nia i badać np. reakcje na podane substancje. Dodatkowo cechuje je dobra przepuszczalność, najłatwiej zatem podać im leki rozpuszczone w wodzie. Istnieje też możliwość wytworzenia zmutowanych osobników *Danio rerio* i poszukiwanie genów odpowiedzialnych za wywoływanie poszczególnych schorzeń. Kolejną zaletą są stosunkowo niskie koszty utrzymania hodowli zebrafish (1, 2).

Oprócz wyżej wymienionych zalet *Danio rerio* część jego cech może mieć szczególne zastosowanie w badaniach z dziedziny okulistyki, ponieważ budowa oka tej ryby wydaje się podobna do budowy oka ludzkiego (3). W środowisku wodnym wzrok jest potrzebny do obrony przed drapieżnikami i zdobywania pożywienia. Siatkówka danio pręgowanego rozwija się bardzo szybko i spełnia swoją funkcję już 5. dnia po zapłodnieniu (4). Tak jak siatkówka ludzka jest zbudowana z 5 warstw. W siatkówce *Danio rerio* dominują czopki, inaczej niż u myszy, u których główną rolę odgrywają pręciki. Czopki, wraz z UV-wrażliwymi krótkimi czopkami, zapewniają tetrachromatyczne widzenie (u ludzi trichromatyczne). Różnicą jest też brak plamki i dołeczka u *Danio rerio* (5, 6). Soczewka tej ryby, w odróżnieniu od soczewki człowieka, jest okrągła, wskutek tego przestrzeń wypełniona przez ciało szkliste jest znacznie mniejsza (6).

Metody badania wzroku u *Danio rerio*

Aby ocenić zdolność widzenia u ryb, opracowano kilka metod. Odpowiedź optokinetyczna (Optokinetic Response – OKR) sprawdza odruch fiksacji oka w odpowiedzi na poruszający się bodziec, którym są białe-czarne zmieniające się pasy. Aby użyć tej metody konieczna jest kilkuminutowa immobilizacja larwy lub dorosłego osobnika. Ta metoda pozwala wychwycić mutanty z zaburzeniami zmysłu wzroku. Jest używana np. do badania genu odpowiedzialnego za kodowanie wrodzonego oczopląsu u *Danio rerio* (6, 7).

Z kolei odpowiedź optomotoryczna (ruchowa) (Optomotor Responce – OMR) ocenia zdolność ryb do pływania między poruszającymi się białymi i czarnymi pasami. Unieruchomienie *Danio rerio* nie jest konieczne i dzięki temu można badać jednocześnie większą grupę ryb (6, 8).

Dwusekundowa ekspozycja pływającej ryby na światło o niskiej mocy (około 60 uW/m²) powinna wywołać reakcję. Ta próba jest nazywana reakcją spłoszenia (The Startle Responce – SR). Larwy *Danio rerio* po 80 godzinach od zapłodnienia reagują pozytywnie na test SR. Kolejnymi, opartymi na podobnych zasadach, sposobami badania dojrzałości układu wzrokowego u larw *Danio rerio* są badania zachowania fototaktycznego (Phototactic Behaviour – PTB), oceniają zdolność do przemieszczania się między dwoma różnie oświetlonymi przestrzeniami, i badanie reakcji ucieczki (Escape Responce – ER), ocenia zdolność do ucieczki przed sztucznym drapieżnikiem (6).

Powyżej wymienione próby opierają się na behawioralnych odruchach na bodźce wzrokowe. Należy jednak pamiętać, że można otrzymać fałszywie ujemne wyniki, np. kiedy dojdzie do uszkodzeń układu nerwowego lub pod wpływem oddziaływania niektórych leków. Wówczas, pomimo sprawnie działającej siatkówki, ryba nie jest w stanie odpowiednio zareagować.

Oto kilka przykładów świadczących o wielkim potencjale badań w dziedzinie okulistyki, w których wykorzystano *Danio rerio*.

Badania nad rogówką

Naukowcom z University of Texas Medical School udało się zbadać morfogenezę i różnicowanie rogówki *Danio rerio* na różnych etapach rozwoju. Użyli do tego metody immunobarwienia, a następnie oceniali układ polipeptydów rogówki pod mikroskopem elektronowym.

Podczas embriogenezy rogówka *Danio rerio* rozwija się bardzo szybko i 3 główne warstwy (nabłonek zewnętrzny, istota właściwa i nabłonek wewnętrzny) są obecne już w 3. dobie po zapłodnieniu. Kolejne etapy dojrzewania rogówki, np. pogrubienie istoty właściwej i wytworzenie warstwy Bowmana i błony Descementa, postępują relatywnie wolniej. Część polipeptydów ulega silnej immunofluorescencji u larw i osobników dorosłych, dzięki temu jest możliwe łatwe prześledzenie drogi rozwoju poszczególnych warstw (9). Na wczesnych etapach rozwoju aparatu wzorku u *Danio rerio* rozwój rogówki jest ściśle powiązany z rozwojem soczewki (10).

Struktura rogówki tej ryby jest bardzo podobna do struktury rogówki u kręgowców wyższych, a w szczególności u człowieka. Rogówka jest zbudowana z 5 warstw, a obecność warstwy Bowmana pozwala badać zaburzenia rogówki przebiegające z jej uszkodzeniem, takie jak dystrofia Reisa-Bucklersona i stożek rogówki, a także mechanizmy powstawania owrzodzeń rogówki. Poznano gen *BIGH3*, który jednakowo odpowiada za dystrofię rogówki u ludzi i ryb *Danio rerio* (9).

Przejrzystość rogówki zarówno ludzkiej, jak i rybiej pozostaje zachowana dzięki działaniu Na⁺/K⁺ ATP pompy, która znajduje się w komórkach śródbłonka. Potwierdził to eksperyment z iniekcją strofantyny – glikozydu nasercowego blokującego pompę Na⁺/K⁺ ATP, podawanej do komory przedniej oka u *Danio rerio*. Podanie strofantyny skutkowało pogrubieniem rogówki i utratą jej przejrzystości. W odróżnieniu jednak od dorosłej rogówki ludzkiej, w której komórki śródbłonka są zatrzymane w fazie G1 cyklu komórkowego, komórki śródbłonka u *Danio rerio* ponownie wchodzi w cykl komórkowy, umożliwiając regenerację uszkodzonej rogówki (11). To zostało potwierdzone licznymi eksperymentami na rogówce u tych ryb. U *Danio rerio* po tygodniu od chirurgicznego ścięcia części centralnej rogówki powróciła ona do pierwotnej grubości i układu. Ta cecha *Danio rerio* może dać odpowiedź, jak indukować proces regeneracji rogówki u ludzi (11).

Pomimo kilku cech różniących rogówkę ludzką od rogówki *Danio rerio* rogówka tej ryby wciąż jest obiecującym materiałem do doświadczalnych badań nad jej zaburzeniami.

Badania nad soczewką

Rola krystaliny w procesie rozwoju soczewki nie jest do końca poznana. Podobieństwo w układzie krystaliny w soczewkach człowieka i *Danio rerio* czyni z tej ryby wartościowy model w badaniach nad rozwojem soczewki. Wyniki badań porównujących zawartość alpha-krystaliny w soczewkach u 4,5-dniowej i 27-miesięcznej ryby *Danio rerio* wskazywały, że stężenia tych białek były odpowiednio około 1-procentowe i 7-procentowe. Ponadto odkryto 3 grupy krystalin pojawiające się na różnych etapach rozwoju *Danio rerio*: przed 10. tygodniem życia (βB1-, βA1-, γN2-krystaliny), po 10. tygodniu życia (α-, βB3-, γS-krystaliny) i grupę względnie stałą w trakcie całej ontogenezy. Największą dynamikę zmian krystaliny odnotowano między

4. tygodniem a 6. miesiącem życia ryby (12). Wyniki sugerują, że część krystalin może odgrywać kluczową rolę w procesie rozwoju soczewki. Wyhodowano także transgenetyczne *Danio rerio* wykazujące ekspresję genów *R49C* i *R116C* kodujących zmutowaną alfa-krystalinę odpowiedzialną za dziedziczną zaćmę (13). Podobieństwo elementów składowych soczewek ludzkiej i *Danio rerio* stwarza szansę na dalsze poznanie zmian w składzie soczewki i roli poszczególnych krystalin w patogenezie zaćmy (14, 15).

Innym białkiem ważnym w rozwoju soczewki jest laminina-1, jej mutacja u *Danio rerio* skutkuje bardzo szybką degeneracją soczewki. Późniejsza w skutkach jest mutacja kolagenu 4a5 (16).

Zespół Alporta (mutacja COL4A5) u *Danio rerio*, podobnie jak u człowieka, wiąże się z wieloma zaburzeniami takimi jak zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym i narządzie wzroku, łącznie ze zmianami degeneracyjnymi soczewki. Opisany jest też *Danio rerio* mutant, zwany „bumper”. Charakteryzuje się on wieloma patologiami soczewki, np. hiperplazją nabłonka i zaburzeniami włókien soczewkowych. Te patologie przyczyniają się do zmniejszenia przejrzystości soczewki i szybszego rozwoju zaćmy. Choć gen odpowiedzialny za ww. zaburzenia nie został jeszcze poznany, wstępne analizy są obiecujące i wskazują na całkiem nowy czynnik, który przyczynia się do rozwoju zaćmy (16).

Jaskra w modelu *Danio rerio*

Powszechnie wiadomo, że jaskra jest jedną z najczęstszych postępujących przyczyn utraty wzroku w populacji ludzkiej. Do dzisiaj nie zostały opisane dokładne mechanizmy powstawania jaskry. Uważa się, że na jej rozwój mają wpływ zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe. Zaledwie niewielki procent przypadków jaskry jest dziedziczony monogenetycznie, reszta wykazuje pochodzenie wieloczynnikowe.

Podobieństwa w odpływie cieczy wodnistej i średnich wartości ciśnienia wewnątrzgałkowego u *Danio rerio* i człowieka czyni z tego gatunku ryby wartościowy model do badań nad genetyką jaskry (17, 18). Udało się z sukcesem wprowadzić do genomu *Danio rerio* część mutacji i badać powstałe zmutowane osobniki. Jednym z przykładów jest gen *FOXC1*. Badania wykazały kluczową rolę *FOXC1* w procesie regulacji czynników odpowiadających za stres oksydacyjny i zahamowanie apoptozy komórek regulujących przepływ cieczy wodnistej (19).

Ostatnio wyhodowano także inną zmutowaną odmianę zebrafisz, która prezentuje bardzo wysokie wartości ciśnienia wewnątrzgałkowego oraz postępujący zanik nerwu wzrokowego. Ten mutant został nazwany „bugeye” (tzw. rybie oko). W swoim genomie ma on mutację genu *lrp2* (lipoprotein receptor-related protein 2) i charakteryzuje się nienaturalnie wielkimi gałkami ocznymi z patologicznie cienką siatkówką. Zmiany w siatkówce widać już u 2-miesięcznego mutantu, lecz wzmożoną apoptozę komórek zwojowych siatkówki można zaobserwować dopiero po upływie roku. *Danio rerio* „bugeye” staje się więc bardzo dobrym modelem w badaniach nad związkiem między przewlekłym podwyższonym ciśnieniem wewnątrzgałkowym, mechanicznym rozciąganiem siatkówki a stanem komórek zwojowych siatkówki (16).

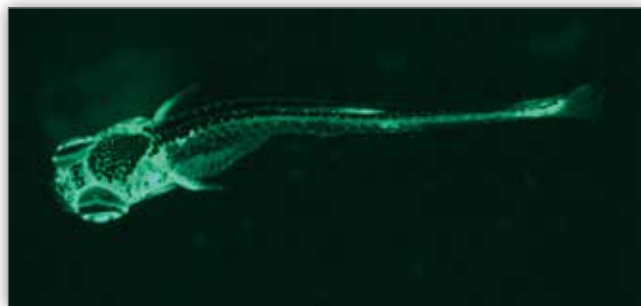
Patologie siatkówki w modelu *Danio rerio*

Retinopatia cukrzycowa może prowadzić do utraty funkcji bariery krew-siatkówka i obrzęku plamki, powstania neowasku-

laryzacji siatkówkowej i krwotoku wewnątrzgałkowego. U *Danio rerio* ww. patologie wywołuje się poprzez około jednonieścięzną hodowlę w roztworze glukozy (20, 21).

Częstym schorzeniem siatkówki jest także zwyrodnienie plamki związane z wiekiem (Age-related Macular Degeneration – AMD). Prowadzi ono do zaburzeń w nabłonku barwnikowym, wytworzenia tak zwanych druz, przerwania ciągłości błony Brucha, następnie może się pojawić neowaskularyzacja (wysiękowa postać AMD). Choroba w dłuższym przebiegu prowadzi do postępujących zaburzeń widzenia centralnego (22). Podobne zmiany powstają u *Danio rerio* po 3–10-dniowej hodowli w wodzie ubogiej w tlen (23). Tego typu doświadczenia najczęściej prowadzi się z użyciem genetycznie zmodyfikowanej linii *Danio rerio*-Fli, z wyznakowanym układem krwionośnym (ryc. 3.).

W leczeniu zarówno wysiękowej postaci AMD, jak i retinopatii cukrzycowej są stosowane iniekcje doszkliskowe preparatów anty-VEGF. Etiologia AMD jednak jest wieloczynnikowa i w związku z tym wciąż poszukuje się nowych możliwości leczniczych blokujących neowaskularyzację. Zebrafisz, poddane wcześniej hipoksji, przetestowano pod kątem działania dostupnych inhibitorów kinazy tyrozynowej, takich jak sunitinib, zm323881. W wyniku tego doświadczenia zaobserwowano zahamowanie tworzenia się nowych naczyń na siatkówce (23).



Ryc. 3. *Danio rerio* – larwa, linia transgeniczna Fli I, z wyznakowanym układem krwionośnym (oglądana pod mikroskopem Stereo discover. v8, fluorescencja 200 c hxp, Carl Zeiss Microscopy GmbH).

Fig. 3. *Danio rerio* – a larva (watched under a microscope Stereo discover. v8, Carl Zeiss Microscopy GmbH).

Jednym ze sposobów leczenia uszkodzonej siatkówki jest terapia laserem. Niestety, pomimo korzyści płynących z zastosowania tej metody – głównie zahamowania progresji chorób, np. retinopatii cukrzycowej, wskutek terapii laserem często zostają uszkodzone zdrowe obszary siatkówki i wytwarzają się blizny. Oczywiście *Danio rerio* poddane laseroterapii reagują w bardzo podobny sposób. Istotne jest jednak, że w odróżnieniu od siatkówki ludzkiej komórki Müllera (występujące w siatkówce kręgowców) przekształcają się w prekursorowe komórki macierzyste, które mają zdolność regeneracji siatkówki i zahamowania powstawania blizn (24).

W wyniku eksperymentalnego uszkodzenia światłem komórek receptorowych siatkówki *Danio rerio* uruchamia się proces regeneracji mający na celu odtworzenie czopków i pręcików. Ten proces jest wysoce swoisty i uruchamia regenerację wyłącznie komórek receptorowych (24).

Regeneracyjne właściwości siatkówki zostały potwierdzone także w badaniu ze strofantyną. Ta substancja została wstrzyknięta do ciała szklistego u *Danio rerio*. Zaobserwowano

uszkodzenie około 85% komórek zwojowych i komórek warstwy wewnętrznej siatkówki oraz minimalne uszkodzenie komórek receptorowych. Proces regeneracji rozpoczął się już po pierwszym dniu od iniekcji i trwał 60 dni, uzyskano naprawę około 75% komórek siatkówki. W wyniku eksperymentu wysunięto wniosek, że uszkodzenie komórek zwojowych i komórek warstwy wewnętrznej siatkówki przebiegające nawet z niewielkim uszkodzeniem fotoreceptorów jest wystarczające, aby został uruchomiony proces regeneracji i w większości odtworzona zniszczona siatkówka (25).

Danio rerio sprawdza się również jako model w badaniach nad barierą krew-siatkówka. U tej ryby ww. bariera zostaje uformowana już po 3 dniach od zapłodnienia. Dzięki znacznikom fluorescencyjnym i ich przyleganiu do białek wchodzących w skład bariery krew-siatkówka staje się możliwe prześledzenie przecieku i stopnia uszkodzenia bariery pod wpływem różnych czynników – np. bradykininy. Analizę przeprowadza się pod mikroskopem fluorescencyjnym. Poszukuje się kluczowych białek i genów je kodujących, które odpowiadają za spójność bariery krew-siatkówka (26).

Oczne zespoły genetyczne

Zespół Jeuna, zwany też dysplazją zaciskającą klatki piersiowej albo dysplazją krótkich żeber, charakteryzują: wąska klatka piersiowa, zwyrodnienie barwnikowe siatkówki, a czasem także niewydolność nerek i wątroby. Ta choroba jest dziedziczona w sposób autosomalny recesywny, a rozwija się z powodu zaburzeń międzyrzęskowego transportu protein. Molekularne podstawy powstawania tego zespołu i jego rozwoju dotychczas wyjaśniono jedynie częściowo. Podanie iniekcji MO-oligomeru Morpholino do organizmu *Danio rerio* pomogło wyhodować model z mutacją genu *IFT80* – jednego z genów odpowiedzialnych za rozwój zespołu Jeuna. Następnie wytworzono preparat i poddano go analizie histologicznej, która uwidoczniła zanik fotoreceptorów. Barwienie preparatu przeciwciałami antyopsynowymi (są nimi światłoczułe białka występujące na siatkówce, które pośredniczą w przekształcaniu fotonów w sygnał elektrochemiczny) wykazało znaczny zanik opsyn zarówno w pręcikach (rodopsyn), jak i w czopkach (jodopsyn). Dalsza analiza uwidoczniła też nieprawidłowe ustawienie tarczy nerwu wzrokowego i zdecydowanie cieńszą warstwę fotoreceptorów. Patologiczne zmiany były też obecne w nerkach oraz w innych narządach (27).

Retinoblastoma, czyli dziedziczny nowotwór siatkówki, powstaje na skutek mutacji, które dezaktywują obie kopie genu *RB1* kodującego białko retinoblastoma (28). Taką mutację można uzyskać u *Danio rerio*. Obserwacje guza oka w ww. modelu wykazały wzmożoną proliferację warstw siatkówki, wytworzenie zdeorganizowanych synaps, pojawienie się rozetek Homera-Wrighta zawierających prymitywne fotoreceptory oraz zmiany w nerwie wzrokowym i w mózgu. W przyszłości badania nad identyfikacją genu hamującego rozwój guza oczu u *Danio rerio* mogą mieć wpływ na to, że dokona się przełom w leczeniu tego guza u ludzi (29).

Coloboma, czyli rozszczep różnych anatomicznych struktur oka takich jak tęczówka, soczewka, siatkówka i nerw wzrokowy, został indukowany również na modelu *Danio rerio*. Chociaż coloboma aż w 10% przypadków może być przyczyną wrodzonej ślepoty u dzieci, jej podłoże genetyczne, z pominięciem kilku

wyselekcjonowanych już genów, wciąż nie jest dokładnie poznane. Ta choroba jest dziedziczna, ale też może powstać jako mutacja sporadyczna. Na rozwój tej wady genetycznej wpływa prawdopodobnie kilka różnych genów kodujących te same ścieżki (16). Takie kombinacje mutacji są niemożliwe do wytworzenia i zbadania u człowieka, zupełnie inaczej niż u *Danio rerio* – u tej ryby nie stanowi to większego problemu.

Krótkowzroczność

Jest to najczęstsze zaburzenie akomodacji występujące w populacji ludzkiej. Powstaje w wyniku nadmiernego wzrostu gałki ocznej, powodując w efekcie zaburzenia refrakcyjne. Chociaż ma podłoże genetyczne, jej dziedziczenie jest złożone i zależne od środowiska zewnętrznego. W procesie zwanym emmetropizacją długość gałki ocznej jest powiązana z mocą refrakcyjną soczewki i rogówki, aby obraz był ogniskowany dokładnie w warstwie fotoreceptorów (30). W badaniach eksperymentalnych krótkowzroczność można wywołać poprzez wytworzenie niewyraźnych obrazów padających na siatkówkę – np. poprzez założenie soczewki zmieniającej refrakcję. Niewyraźny obraz jest odebrany przez fotoreceptory i przetworzony przez neurony siatkówki. Następnie sygnał niewyraźnego obrazu jest przesłany przed siatkówkę do naczyńówki i twardówki, które uczestniczą w procesie wydłużania się gałki ocznej. Początkowo naczyńówka zwiększa przepływ naczyńiowy, następnie twardówka przebudowuje się poprzez zmiany w układzie kolagenu, powodując wydłużanie się gałki ocznej. Takie eksperymenty przeprowadzano na kurczętach, ponieważ ich oczy są w fazie wzrostu aż do osiągnięcia dojrzałości. Oczy *Danio rerio* rosną przez całe życie, dlatego wydają się doskonałym modelem w badaniach nad mechanizmem powstawania krótkowzroczności (16, 31).

Farmakologia

Danio przegowany jest użytecznym modelem w badaniach nad określeniem stopnia toksycznego oddziaływania leków na różne narządy, w tym na oczy. Tej rybie akwaryjnej podawano 19 leków znanych z toksycznego oddziaływania na oczy, np. digoksynę, pogorszenie widzenia stwierdzono po podaniu 13 spośród nich. Być może takie doświadczenia pozwolą lepiej zbadać działania niepożądane leków, zanim zostaną one zarejestrowane (6, 32).

Podsumowanie

Wszystkie powyżej wymienione cechy *Danio rerio* sprawiają, że obecnie ta ryba jest modelem często wykorzystywanym w badaniach eksperymentalnych w okulistyce.

Piśmiennictwo:

1. Korzeniowski JP, Wiweger M: *Zebrafish Core Facility, Zebrafish as a laboratory animal – principles of nursing and veterinary care*. Życie Weterynaryjne. 2014; 89(09): 750–756.
2. Howe K, Clark MD, Torroja CF, Torrance J, Berthelot C, Muffato M, et al.: *The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome*. Nature. 2013; 496(7446): 498–503.
3. Fadool JM, Dowling JE: *Zebrafish: A model system for the study of eye genetics*. Prog Retin Eye Res. 2008; 27(1): 89–110.
4. Easter SS, Jr., Nicola GN: *The development of vision in the zebrafish (Danio rerio)*. Dev Biol. 1996; 180(2): 646–663.

5. Raymond PA, Barthel LK, Rounsifer ME, Sullivan SA, Knight JK: *Expression of rod and cone visual pigments in goldfish and zebrafish: a rhodopsin-like gene is expressed in cones*. *Neuron*. 1993; 10(6): 1161–1174.
6. Chhetri J, Jacobson G, Gueven N: *Zebrafish-on the move towards ophthalmological research*. *Eye*. (Lond) 2014; 28(4): 367–368.
7. Brockerhoff SE, Hurley JB, Janssen-Bienhold U, Neuhauss SC, Driever W, Dowling JE: *A behavioral screen for isolating zebrafish mutants with visual system defects*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92(23): 10545–10549.
8. Mueller KP, Neuhauss SC: *Quantitative measurements of the optokinetic response in adult fish*. *J Neurosci Methods*. 2010; 186(1): 29–34.
9. Zhao XC, Yee RW, Norcom E, Burgess H, Avanesov AS, Barish JP, et al.: *The Zebrafish Cornea: Structure and Development*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006; 47(10): 4341–4348.
10. Greiling TMS, Clark JI: *The transparent lens and cornea in the mouse and zebra fish eye*. *Semin Cell Dev Biol*. 2008; 19(2): 94–99.
11. Heur M, Jiao S, Schindler S, Gage Crump J: *Regenerative potential of the zebrafish corneal endothelium*. *Exp Eye Res*. 2013; 106: 1–4.
12. Wages P, Horwitz J, Ding L, Corbin RW, Posner M: *Changes in zebrafish (Danio rerio) lens crystallin content during development*. *Mol Vis*. 2013; 19: 408–417.
13. Graw J: *Genetics of crystallins: cataract and beyond*. *Exp Eye Res*. 2009; 88(2): 173–189.
14. Runkle S, Hill J, Kantorow M, Horwitz J, Posner M: *Sequence and spatial expression of zebrafish (Danio rerio) alphaA-crystallin*. *Mol Vis*. 2002; 8(6): 45–50.
15. Goishi K, Shimizu A, Najarro G, Watanabe S, Rogers R, Zon LI, et al.: *AlphaA-crystallin expression prevents gamma-crystallin insolubility and cataract formation in the zebrafish cloche mutant lens*. *Development*. 2006; 133(13): 2585–2593.
16. Gestri G, Link BA, Neuhauss SCF: *The Visual System of Zebrafish and its Use to Model Human Ocular Diseases*. *Dev Neurobiol*. 2012; 72(3): 302–327.
17. Gray MP, Smith RS, Soules KA, John SWM, Link BA: *The aqueous humor outflow pathway of zebrafish*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50(4): 1515–1521.
18. McMahon C, Semina EV, Link BA: *Using zebrafish to study the complex genetics of glaucoma*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2004; 138(3): 343–350.
19. Skarie JM, Link BA: *FoxC1 is essential for vascular basement membrane integrity and hyaloid vessel morphogenesis*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50(11): 5026–5034.
20. Jörgens K, Hillebrands JL, Hammes HP, Kroll J: *Zebrafish: a model for understanding diabetic complications*. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2012; 120(4): 186–187.
21. Gleeson M, Connaughton V, Arneson LS: *Induction of hyperglycaemia in zebrafish (Danio rerio) leads to morphological changes in the retina*. *Acta Diabetol*. 2007; 44(3): 157–163.
22. Polaczek-Krupa B: *Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem*. *Okulistyka*. 1998; 3: 47–53.
23. Cao Z, Jensen LD, Rouhi P, Hosaka K, Länne T, Steffensen JF, et al.: *Hypoxia-induced retinopathy model in adult zebrafish*. *Nat Protoc*. 2010; 5(12): 1903–1910.
24. Gemberling M, Bailey TJ, Hyde DR, Poss KD: *The zebrafish as a model for complex tissue regeneration*. *Trends Genet*. 2013; 29(11): 611–620.
25. Fimbel SM, Montgomery JE, Burket CT, Hyde DR: *Regeneration of inner retinal neurons after intravitreal injection of ouabain in zebrafish*. *J Neurosci* 2007; 27(7): 1712–1724.
26. Xie J, Farage E, Anand-Apte B: *A New Transgenic Zebrafish Model for Studying the Blood-Retinal Barrier*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50(13): 2939.
27. Hudak LM, Lunt S, Chang CH, Winkler E, Flammer H, Lindsey M, et al.: *The intraflagellar transport protein ift80 is essential for photoreceptor survival in a zebrafish model of jeune asphyxiating thoracic dystrophy*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010; 51(7): 3792–3799.
28. Friend SH, Bernards R, Rogelj S, Weinberg RA, Rapaport JM, Albert DM, et al.: *A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma*. *Nature*. 1986; 323: 643–646.
29. McGrail M, Brodskiy PA, Whitley EM, Sakaguchi DS, Essner JJ: *A Genetic Model of Retinoblastoma in Zebrafish*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011; 52(14): 1371.
30. Szumiński M, Bakunowicz-Łazarczyk A: *Współczesne poglądy na etiopatogenezę, diagnostykę i postępowanie w krótkowzroczności*. *Kontaktologia i Optyka Okulistyczna*. 2010; 2: 18–23.
31. Link BA, Collery RF: *Zebrafish Models of Retinal Disease*. *Annual Review of Vision Science*. 2015; 1: 125–153.
32. Deeti S, O'Farrell S, Kennedy BN: *Early safety assessment of human oculotoxic drugs using the zebrafish visualmotor response*. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2014; 69(1): 1–8.

Praca wpłynęła do Redakcji 29.11.2016 r. (KO-00096-2016)
Zakwalifikowano do druku 13.01.2017 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
lek. Katarzyna Danieluk
ul. Dworska 7a, 11-500 Gizycko
e-mail: kadanieluk@gmail.com