РАДИАЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ. РАДИОЭКОЛОГИЯ, 2020, том 60, № 2, с. 163–174

ОБЩАЯ РАДИОБИОЛОГИЯ

УДК 597.4/.5:57.084:539.1.047

DANIO RERIO КАК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ В РАДИОБИОЛОГИИ

© 2020 г. А. А. Ливанова[1,*], А. В. Завирский[1], В. Ю. Кравцов[1]

[1]*Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия*

**E-mail: alexandralivanova@mail.ru*

Поступила в редакцию 25.04.2019 г.

Обзор посвящен анализу литературных данных по использованию пресноводных аквариумных рыб *Danio rerio* в качестве модельных животных для радиобиологических экспериментов. *Danio rerio*, известные в иностранной литературе как *Zebrafish*, уже стали хрестоматийной *in vivo* моделью в биологии развития, молекулярной и клеточной биологии, фундаментальной генетике, а также токсикологии. В настоящее время эти рыбы все чаще используются в радиобиологии как для фундаментальных исследований механизмов радиоспецифического ответа, так и для оценки радиопротекторных и радиосенсибилизирующих свойств различных веществ. Эксперименты в равной мере проводят на эмбрионах и мальках рыб, а также взрослых особях. При этом эмбрионы и мальки обладают крайней радиочувствительностью, что позволяет исследовать эффекты воздействия излучения в малых дозах, в то время как взрослые особи характеризуются крайней радиорезистентностью, что определяет перспективу их использования для оценки активности агентов, потенцирующих мутагенный эффект ионизирующего излучения. Набор методических инструментов для работы с *Danio rerio* достаточно велик, и предпочтение исследователя определяется конкретными задачами и техническим оснащением лаборатории.

Ключевые слова: *Danio rerio*, *Zebrafish*, биоиндикация, радиобиологическая модель, модельный организм

DOI: 10.31857/S0869803120020095

Подбор оптимальных экспериментальных животных лежит в основе радиобиологического исследования и определяет возможность экстраполяции результатов как на организм человека, так и на компоненты дикой природы. В радиобиологии в качестве *in vivo* модели наиболее часто используются млекопитающие [1], однако в последнее время все больше экспериментальных работ выполняется на *Danio rerio*. Пресноводная рыба *Danio rerio*, называемая в иностранной литературе *Zebrafish*, является хрестоматийной моделью для изучения механизмов онтогенеза и канцерогенеза, генетических и эпигенетических процессов [2, 3]; ее значимость для фундаментальных и прикладных исследований сложно переоценить. Регулярно организовывается международная конференция, посвященная биологическим исследованиям, использующим *Danio rerio* [4]. За рубежом издается журнал "*Zebrafish*" с широким кругом освещаемых вопросов, лежащих в сфере научных интересов молекулярных и клеточных биологов. Все эти данные подтверждают неоценимый вклад *Danio rerio* в развитие большого числа областей биологии и медицины. Сегодня в отечественных и зарубежных печатных изданиях появляется все больше сообщений о возможности использования этих рыб и для радиобиологических исследований [5–8].

Можно выделить следующие преимущества рыб *Danio rerio*, определяющие перспективу их использования в радиобиологии:

1. Высокая степень функциональной гомологии генома с геномом млекопитающих и, в частности, человека [9]. Работа по секвенированию генома *Danio rerio* к настоящему моменту полностью завершена [10, 11]. Показано, что 70% нуклеотидных последовательностей генов являются гомологичными для *Danio rerio* и человека [12], несмотря на дивергентное расхождение эволюционных путей около 450 млн лет назад. При этом особенно высокой гомологией характеризовались гены, вовлеченные в клеточную сигнализацию, регуляцию пролиферативного цикла и клеточную дифференцировку [13–15]. В этой связи изучение последствий воздействия ионизирующего излучения на этих рыб может дать широкое представление о фундаментальных механизмах радиобиологического ответа с возможностью экстраполяции результатов на организм человека.

2. Распространенность в природе, а также легкий уход и поддержание аквакультуры в условиях

лаборатории [16]. Из-за небольшого размера (взрослые особи не превышают 3–6 см в длину) и неприхотливости рыб несложно создать и поддерживать аквакультуру *Danio rerio* в условиях, максимально близких к естественным, что оказывается проблематичным при работе с млекопитающими. С другой стороны, *Danio rerio* широко распространены в дикой природе (характерны для внутренних пресных водоемов Юго-Восточной Азии), что позволяет изымать их прямо из естественных мест обитания с целью оценки радиационного загрязнения водных биоценозов.

3. Зародыши и мальки рыб *Danio rerio* полностью прозрачны, что позволяет применять неинвазивные методы визуализации результатов эксперимента при работе с этими модельными животными [17].

4. Высокая плодовитость. Одна пара взрослых особей *Danio rerio* дает 200–300 потомков по сравнению с 5–10 потомками, получаемыми от пары грызунов [18]. Это облегчает изучение эффектов ионизирующего излучения в ряду поколений, а также позволяет поддерживать популяцию в аквакультуре без значительных финансовых и временных затрат.

5. Быстрое развитие. Большинство органов (глаза, мозг, сердце, печень, мускулатура, скелет, пищеварительная система) *Danio rerio* становятся различимыми спустя 72 ч после оплодотворения. В этой связи степень радиационного воздействия можно адекватно оценить по возникающим нарушениям в ходе гисто- и органогенеза [19]. Кроме того, мальки достигают половой зрелости через полгода после оплодотворения, что также способствует быстрому возобновлению популяции и поддержанию аквакультуры.

6. Высокая чувствительность эмбрионов к геноповреждающим агентам. Эмбрионы *Danio rerio* крайне чувствительны даже к незначительному воздействию компонентов среды, имеющих мутагенное воздействие [20], благодаря чему можно исследовать эффекты ионизирующего излучения в малых дозах. Кроме того, показано, что механизмы регенерации тканей и репарации ДНК у рыб сходны с таковыми у млекопитающих, что способствует широкой интерпретации результатов при исследовании молекулярных механизмов радиоспецифического клеточного ответа на модели *Danio rerio* [21]. Стоит, однако, отметить, что, по сравнению с эмбрионами и мальками, радиочувствительность взрослых особей существенно ниже в связи с формированием и стабилизацией у них системы репарации ДНК, иммунной системы и значительным снижением пролиферативной активности подавляющего большинства клеток [5].

7. Наличие широкого ряда трансгенных линий *Danio rerio*. Апробированной техникой является нокаутирование генов с помощью морфолиновых олигомеров, комплементарно связывающихся с таргетной ДНК или мРНК, блокируя генную экспрессию в клетках эмбрионов [22, 23]. Такие линии зачастую используются в эксперименте как модели заболеваний человека, однако они также могут стать полезными для фундаментальных исследований молекулярных механизмов радиоспецифического клеточного ответа.

Отдельной причиной для роста интереса к рыбам *Danio rerio* со стороны токсикологов и радиобиологов является интенсивное развитие методик экотоксикологического и радиационно-экологического мониторинга водной среды и возникающая в связи с этим необходимость поиска оптимальной модели. На загрязнение водных экосистем за счет ядерных и химических отходов уже обратили внимание Международная комиссия по радиологической защите (МКРЗ) и Международное агентство по атомной энергии (МАГАТЭ), разработавшие проекты в области оценки рисков радиационного загрязнения среди организмов дикой природы [24–26]. С 1982 г., когда Джордж Штрайзингер впервые предложил анализировать мутагенный эффект канцерогенов окружающей среды на рыбах *Danio rerio* [27], они активно используются как *in vivo* тест-система для индикации экотоксикантов в водной среде. В течение трех следующих десятилетий *Danio rerio* успешно применялись для идентификации тератогенов, установления механизмов воздействия токсинов, а также определения тканеспецифичного ответа на них [28–32].

Первые работы, выявившие мутагенные эффекты при воздействии рентгеновского излучения на клетки *Danio rerio*, были опубликованы в 1983 г. [33, 34]. Значительное повышение интереса к данному модельному организму в радиобиологии происходит в конце 1990-х – начале 2000-х годов, и с каждым годом количество исследовательских работ увеличивается. В качестве экспериментальной модели используются эмбрионы, мальки, а также взрослые особи *Danio rerio*. Методически подход к работе с разными стадиями отличается, поэтому в данном обзоре исследование эмбрионов и взрослых особей рассматривается отдельно.

ЭМБРИОНЫ *DANIO RERIO* КАК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Описаны следующие стадии развития эмбриона *Danio rerio* в течение первых трех суток после оплодотворения [19]:

1) зигота (0–45 мин после оплодотворения), совершающая первое митотическое деление;

2) дробление зиготы (45 мин – 2 ч 15 мин после оплодотворения), в ходе которого происходят 2–7-е синхронные митотические деления;

3) бластула (2 ч 45 мин–5 ч 15 мин), клетки которой характеризуются быстрыми метасинхронными митотическими циклами (№ 8–9), с последующими удлиненными асинхронными делениями, начало эпиболии;

4) формирование гаструлы (5 ч 15 мин–10 ч), сопровождающееся закладкой эпибласта, гипобласта и эмбриональной оси, окончанием эпиболии;

5) сегментация (10–24 ч после оплодотворения), сопровождающаяся формированием сомитов, первичным органогенезом, формированием хвоста;

6) формирование фарингулы (24–48 ч после оплодотворения) – выпрямление главной оси тела относительно своей первоначальной изогнутости вокруг желточного мешка, запуск циркуляции крови, пигментации, развитие отделов тела;

7) выклев (42–72 ч после оплодотворения) – завершение морфогенеза первичных систем органов, развитие хрящевой ткани в головном и грудном отделе;

8) стадия раннего малька (от 72 ч), характеризующаяся развитием плавательного пузыря и появлением активно передвигающегося в поисках пищи малька.

Основные системы органов полностью формируются у *Danio rerio* к 72 ч после оплодотворения. Биологические эффекты ионизирующего излучения возможно оценивать на любой из вышеперечисленных стадий онтогенеза рыб. Помимо этого, ранние стадии развития *Danio rerio* крайне чувствительны к генотоксическому воздействию в связи с одновременной пролиферацией большого количества клеток [35], полным отсутствием иммунной системы [36, 37] и сниженной активностью систем репарации [37, 38]. Это позволяет визуализировать эффекты воздействия ионизирующего излучения даже в малых дозах. При этом морфологические нарушения в формировании зародышей легко наблюдать в связи с их почти полной прозрачностью. Так, в свете этих преимуществ, руководство Организации экономического содружества и развития (Organisation for Economic Co-operation and Developmen, OECD) рекомендует использование рыб, находящихся на ранних стадиях онтогенеза как экспериментальную модель для определения токсического эффекта любых загрязнителей [39–43]. Данное руководство выделяет следующие критерии оценки токсического воздействия на рыб: смертность эмбрионов, продолжительность стадии выклева, морфология зародыша (длина, масса, наличие разных форм патологии развития). Эти же критерии используются в экспериментальных работах для оценки повреждающего действия разных видов радиации. Детельфсен и соавт. обнаружили, что в результате воздействия ультрафиолетового излучения на икру ершоватки *Limanda limanda* и морской камбалы *Pleuronectes platessa* повышается смертность эмбрионов, снижаются выклев мальков и их плавучесть [44]. Другая группа авторов также обнаружила УФ-индуцированные морфологические и гистологические нарушения в ходе эмбриогенеза африканских сомов *Clarias gariepinus* [45]. Множественные патологии развития были зарегистрированы у пресноводной японской медаки *Oryzias latipes* вследствие острого облучения [46, 47], в то время как при хроническом облучении было обнаружено лишь небольшое количество аномалий [48]. В целом эмбрионы *Oryzias latipes* чаще используются в исследованиях нарушения закладки нервной ткани при воздействии ионизирующего излучения в связи с тем, что морфогенез головного мозга у этих рыб протекает медленнее, чем у *Danio rerio* [49, 50].

Изменения продолжительности фаз эмбриогенеза у *Danio rerio*, вызываемые радиационным воздействием, также использовались в качестве маркера в нескольких радиобиологических работах. Так, Саймон и соавт. [51] показали, что облучение эмбрионов в дозах от 1 до 1000 мГр в течение 20 дней приводит к сокращению стадии выклева, изменению биомассы эмбрионов *Danio rerio* и повышению их смертности. В данном исследовании хроническое воздействие ионизирующего излучения даже в самой малой дозе (1 мГр) приводило к серьезным морфологическим нарушениям развития эмбрионов. При этом, согласно одному из официальных докладов МАГАТЭ, было установлено, что безопасным значением поглощенной дозы для водных организмов является 10 Гр [52]. В работе Миячи и соавт. исследовали особенности воздействия рентгеновского излучения в малой дозе (25 мГр) на разные фазы эмбриогенеза *Danio rerio* и также обнаружили значительное сокращение стадии выклева у облученных эмбрионов [53]. Причем при контакте с радиацией в процессе дробления зиготы или на стадии бластулы время следующей за ними стадии выклева сокращалось примерно на 6 ч, тогда как при воздействии излучения непосредственно на зиготу продолжительность выклева статистически значимо не изменялось [53].

Основным механизмом пагубного воздействия ионизирующего излучения считается внесение двуцепочечных разрывов в структуру ДНК [54]. Для оценки геномоповреждающего воздействия ионизирующего излучения на *Danio rerio* чаще других пользуются методом ДНК-комет [55]. Джарвис и Ноулз [20] использовали этот метод в своей работе для детекции разрывов ДНК в клетках двухдневных мальков *Danio rerio* после

воздействия γ-излучения с мощностью дозы 0.007, 0.02 и 0.12 мГр/мин в течение 1 или 24 ч. Показатели поврежденности ДНК, статистически значимо отличающиеся от контрольных значений, были получены для мощностей 0.02 и 0.12 мГр/мин, причем как для экспозиции в течение 1 ч, так и 24 ч. Таким образом, авторы подтвердили преимущественную роль мощности излучения по сравнению с продолжительностью экспозиции при возникновении радиобиологического ответа у *Danio rerio*, что в целом характерно для всех биомоделей.

В работе Саймона и соавт. [51] эмбрионы *Danio rerio* на стадии бластулы и на стадии сегментации подвергались воздействию γ-излучения в дозах от 1 до 1000 мГр в течение 48 ч. С помощью метода ДНК-комет авторы продемонстрировали значимое повышение степени повреждения ДНК в экспериментальных группах на 40–50% по сравнению с контролем. Помимо нарушения структуры ДНК, при воздействии ионизирующего излучения изменяется также профиль транскрипции, повышается экспрессия генов ростовых факторов, воспалительных белков и цитокинов [56]. В дальнейшем геноповреждающий эффект ионизирующего излучения был обнаружен в клетках эмбрионов *Danio rerio* во многих экспериментальных работах [9, 57–60]. Все эти работы демонстрируют крайнюю радиочувствительность зародышей *Danio rerio* на всех стадиях эмбриогенеза, предшествующих гаструляции (до 5 ч после оплодотворения). Икегами и соавт. полагают, что критическим моментом формирования радиорезистентности является переход к средней бластуле (midblastula transition, MBT), когда нарушается синхронность дробления, и в слабо дифференцированных клетках эмбрионов запускается экспрессия ключевых генов, вовлеченных в репарацию ДНК [36].

Помимо прямого мутагенного действия, путем внесения двунитевых разрывов, ионизирующее излучение также приводит к индукции эпигенетических эффектов, таких как изменение паттерна метилирования ДНК, модификаций гистонов и профиля микроРНК [61–63]. У рыб ведущая роль в этих процессах отводится свободнорадикальным формам кислорода, индуцирующим эпигенетические эффекты при непрямом механизме действия ионизирующего излучения [64]. Камстра и соавт. впервые показали, что при облучении в клетках *Danio rerio* изменяется рисунок метилирования ДНК, причем этот эпигенетический феномен передается в ряду поколений [65]. Эмбрионы получали спустя 5,5 ч после оплодотворения от взрослых особей, подвергнутых воздействию γ-излучения с мощностью дозы 0.145 мГр/мин в течение 27 сут. В трех последующих поколениях, полученных от особей, подвергшихся радиационному воздействию, эмбрионы исследовались на предмет распределения сайтов метилирования в геноме. Было обнаружено, что паттерн метилирования действительно изменяется, в частности в областях энхансеров и промоторов, которые регулируют экспрессию генов, вовлеченных в сигнальные пути гисто- и органогенеза, а также апоптоза и канцерогенеза [65].

Другие виды ионизирующего излучения, помимо γ-радиации, также исследуют на предмет последствий их воздействия на эмбриогенез *Danio rerio*. Так, в работе Сзабо и соавт. был рассчитан показатель относительной биологической эффективности (ОБЭ) протонного излучения на основе наблюдения за выживаемостью и появлением морфологических нарушений у эмбрионов *Danio rerio* [66]. Другая группа ученых, исследовавшая эффекты воздействия протонов, использовала эмбрионы *Danio rerio* через 24 ч после оплодотворения [67]. Эмбрионы подвергались воздействию протонов, при этом оценивали нарушения перехода к стадии раннего малька, а также нарушения экспрессии некоторых генов методами ДНК-микрочипов и qRT-PCR (Real Time-Polymerase Chain Reaction, полимеразная цепная реакция в реальном времени). Увеличение количества эмбрионов и мальков с аномальными фенотипами после облучения носило дозозависимый характер. Количество копий митохондрий и частота дыхания экспонированных эмбрионов значительно снизились. С помощью технологии ДНК-микрочипов было продемонстрировано, что сигнальные пути MAPK (mitogen-activated protein kinase, митоген-активируемая-протеинкиназа) и TGF-β (transforming growth factor beta, трансформирующий ростовой фактор бета), а также реакции гликолиза характеризуются изменениями в облученной группе, по сравнению с контрольной. Экспрессия генов матричной металлопептидазы 9 (mmp9) и ингибитора металлопептидазы TIMP 2b (timp2b), а также ферментативная активность MMP9 были значительно повышены в экспонированной группе. Сделаны выводы, что острое воздействие протонов оказывает серьезное влияние на развитие организма и приводит к появлению морфологических нарушений на ранней стадии эмбриогенеза *Danio rerio*, в основе которых лежит митохондриальная и гликолитическая дисфункция. Воздействие α-излучения на эмбрионы *Danio rerio* было также изучено в работе Юм и соавт. [68]. В ней описан метод, позволяющий рассчитывать поглощенную дозу α-излучения клетками эмбрионов *Danio rerio*. Облучение эмбрионов *Danio rerio* проводили через 4 ч после оплодотворения в течение 4 мин в дозах до 2.3 мГр. Были продемонстрированы морфологические нарушения в группах облученных эмбрионов по сравнению с контрольной группой. Последствия воздействия α-излучения стали предметом исследований, результаты которых

изложены в ряде других работ [69–71]. Нейтронным излучением в дозах от 0.6 до 100 мГр воздействовали на эмбрионы *Danio rerio* в работе Нг и соавт. для исследования радиационного гормезиса [72].

Некоторые исследования с *Danio rerio* анализируют механизм запуска апоптоза в результате токсического и радиационного воздействия. Так, в работе Ябу и соавт. показано, что воздействие УФ- и γ-излучения (5–20 Гр) стимулирует апоптоз у эмбрионов [73]. Апоптотические клетки наблюдались на стадии односомитного эмбриона с помощью TUNEL-метода (Transferase mediated dUTP Nick End Labeling). О запуске механизмов апоптоза также свидетельствовало многократное увеличение активности каспазы-3 [73]. В работе Бладен и соавт. [57] эмбрионы на стадии ранней гаструлы подвергались воздействию γ-излучения в разных дозах (от 0 до 15 Гр). При этом, начиная с 0.5 Гр, при использовании TUNEL-метода количество TUNEL-позитивных апоптотических клеток значимо отличалось от такового в контрольной группе.

Эмбрионы *Danio rerio* также могут использоваться в качестве модели для оценки эффективности радиопротекторов и радиосенсибилизаторов. В работе МакАлера и соавт. [42] оценены эффекты рентгеновского излучения в сочетании с известным радиопротектором (акцептором свободных радикалов амифостином) или радиосенсибилизатором (ингибитором эпидермального ростового фактора AG1478). Воздействие ионизирующего излучения в дозах более 4 Гр приводило к гибели эмбрионов на стадии гаструлы. При воздействии радиопротектора амифостина до облучения выживаемость эмбрионов повышалась, а количество таковых с морфологическими нарушениями, напротив, снижалось. Присутствие радиосенсибилизатора AG1478 привело к 20%-ному снижению выживаемости эмбрионов *Danio rerio* и повышению степени тератогенного воздействия излучения [42]. Радиопротекторные свойства амифостина в отношении *Danio rerio* были также показаны в работе Дароцци и соавт., опубликованной в 2009 г [74]. В этой же работе продемонстрированы радиосенсибилизирующие свойства ингибитора протеасом PS-341 и радиопротекторные свойства ингибиторов NF-kB EP и CDDO-TFEA в отношении эмбрионов *Danio rerio*. Эмбрионы *Danio rerio* применялись также для изучения радиосенсибилизирующих свойств флавопиридола в тканях, подвергшихся воздействию γ-излучения или рентгеновского излучения. Выживаемость эмбрионов снизилась вдвое, а степень морфологических нарушений, напротив, повысилась в присутствии флавопиридола [58]. Ранее эта же группа авторов охарактеризовала радиопротекторные свойства наночастиц DF-1 на модели эмбрионов *Danio rerio* [59]. Добавление DF-1 заметно ослабляло повреждающий эффект ионизирующего излучения при приеме за 3 ч до и через 15 мин после облучения. Так, при использовании DF-1 увеличивалась выживаемость эмбрионов, снижалось количество аномальных фенотипов с искривленной боковой линией, а также с нарушениями выделительной функции [59]. В работе Конга и соавт. показано, что экзогенное назначение оксида азота (NO) также оказывает радиопроекторный эффект на эмбрионы *Danio rerio* [75].

Данные обзора, представленные выше, позволяют заключить, что эмбрионы *Danio rerio* удобны для изучения широчайшего спектра биологических эффектов ионизирующего излучения. Сегодня радиобиологи могут реализовывать многие исследовательские задачи, стоящие перед ними, с применением данной модели, в особенности оценку эффектов воздействия излучений в малых дозах. Ниже мы рассмотрим особенности применения взрослых особей *Danio rerio* в радиобиологическом эксперименте применимо к их крайней радиорезистентности.

ВЗРОСЛЫЕ ОСОБИ *DANIO RERIO* КАК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Взрослые особи рыб гораздо более радиорезистентны, чем взрослые млекопитающие. $ЛД_{50/30}$ γ-излучения для *Danio rerio* составляет 20.4 Гр [5], что сопоставимо с этим показателем у других представителей семейства: большого индийского карпа *Catla catla* (22.38 Гр, [26]), обыкновенного карпа *Cyprinus carpio* (21.6 Гр, [5]) и золотой рыбки *Carassius auratus* (23 Гр, [76]). Сходные показатели радиоустойчивости этих рыб объясняются филогенетическим родством и общими физиологическими, биохимическими и метаболическими особенностями. Необычайно высокие показатели полулетальных и абсолютных летальных доз, характерные для водных организмов в целом, связаны с тем, что у рыб реализуется в основном непрямой механизм действия ионизирующего излучения в связи с водной средой обитания [5]. Считается, что ключевую роль в индуцированном излучением повреждении ДНК у рыб играют гидроксил-радикалы [77].

Одним из основных детерминированных эффектов и непосредственных причин летального исхода у млекопитающих при воздействии больших доз ионизирующего излучения является цитопенический синдром [78]. Гемопоэтическую функцию у рыб выполняет не красный костный мозг, а в основном почки, жабры, лимфоидный орган, тимус и другие органы [79]. Воздействие ионизирующего излучения в минимальной летальной дозе (40 Гр) на *Danio rerio* приводит к убыли гемопоэтических клеток и всех групп лей-

коцитов в почке и смерти рыб в течение 14 дней. В работе Трэвера и соавт. пересадка части почки привела к 70%-ному повышению выживаемости взрослых особей в течение 30 дней после воздействия ионизирующего излучения в дозе 40 Гр [80]. Полученные авторами данные подтверждают, что холоднокровные животные являются более радиоустойчивыми по сравнению с теплокровными, что в целом согласуется с сильным влиянием температуры на радиочувствительность клеток живых организмов [78].

Степень радиобиологического ответа значительно отличается в клетках разных тканей рыб в связи с выполняемыми ими функциями. Наиболее часто при исследовании геноповреждающих эффектов различных агентов на модели взрослых особей *Danio rerio* используется периферическая кровь, полученная из хвостовой вены. По сравнению с другими соматическими клетками, содержащие ядро и способные к пролиферации эритроциты рыб оказываются более радиочувствительными по причине кислородного эффекта, возникающего в них в связи с выполняемой функцией [36]. Другим объектом, используемым в некоторых работах в области акватоксикологии, являются ткани жабр [81, 82]. В связи с непосредственным контактом с водной средой, а также ролью в газообмене и осморегуляции, жабры подвергаются сильному воздействию акватоксинов и продуктов радиолиза.

Небольшое число фундаментальных радиобиологических исследований уже проведено на модели *Danio rerio*. Показано, что при поступлении радионуклидов через воду излучение оказывает более серьезный эффект на организм по сравнению с другими механизмами. Это было продемонстрировано в работе Рейнарди и соавт. [83], где взрослые особи *Danio rerio* контактировали с радионуклидами разной природы через пищу или через воду. При этом концентрация радионуклидов в тканях рыб статистически значимо отличалась от контроля в обоих случаях, однако при поступлении через воду она была значительно выше. Кроме того, по сравнению с результатами, полученными при исследовании различных морских рыб [84, 85], у *Danio rerio* обнаруживалась более высокая скорость биоаккумуляции радионуклидов. Это может объясняться тем, что пресноводные рыбы более активно принимают из среды ионы для поддержания гомеостаза [86]. Среди пресноводных рыб контакт с радионуклидами в естественной среде имитировали в экспериментах с *Pimephales promelas*. Было также обнаружено, что особенно активно аккумуляция радионуклидов происходит на ранних этапах эмбриогенеза, характеризующихся активной пролиферацией клеток. Взрослые особи характеризовались крайней радиорезистентностью и низкой скоростью биоаккумуляции [87, 88].

Влияние ионизирующего излучения на взрослых особей *Danio rerio* в большинстве опубликованных работ оценивают по изменению физиологических показателей. Нарушение репродуктивной функции взрослых особей после радиационного воздействия было продемонстрировано в исследовании Хурем и соавт. [89]. Взрослых особей подвергали воздействию γ-излучения с мощностью дозы 0.145 и 0.88 мГр/мин в течение 27 сут, после чего наблюдали за изменением репродуктивной функции. Следует отметить, что при действии излучения с мощностью дозы 0.145 мГр/мин продукция эмбрионов значительно снизилась через год после облучения, а через 1.5 года после облучения была обнаружена полная регрессия репродуктивных органов. Снижение фертильности в зависимости от дозы оказалось пропорционально количеству повреждений ДНК, визуализированных методом ДНК-комет в эритроцитах периферической крови [89].

Наследование геноповреждающих эффектов ионизирующего излучения потомками взрослых особей *Danio rerio* становилось предметом исследования в нескольких работах. В работе Лемос и соавт. взрослые особи подвергались воздействию рентгеновского излучения в дозах 0.1; 0.5 и 1.0 Гр [35]. При этом было получено потомство от каждой группы облученных рыб. Эритроциты периферической крови взрослых особей и клетки эмбрионов первого поколения анализировались с помощью метода ДНК-комет. Количество повреждений ДНК в клетках крови взрослых особей увеличивалось дозозависимо при измерении в первый день после облучения, но впоследствии возвращалось к контрольному. Степень повреждения ДНК у потомков коррелировала со степенью повреждения ДНК родительских особей [35]. Эти результаты подтвердили геноповреждающее действие радиации при однократных облучениях в малых дозах для взрослых особей и их потомков, а также дозозависимость геноповреждающего эффекта ионизирующего излучения на *Danio rerio*.

Степень генотоксического воздействия различных веществ на *Danio rerio* также анализируют по изменению профиля генной экспрессии. При этом измеряют количество мРНК, соответствующей специфичным транскрибируемым генам. Это позволяет не только охарактеризовать токсикогеномику агента, но и предположить, как можно предотвратить его эффект [54, 90]. В работе Джафаар и соавт. 16-недельные особи *Danio rerio* подвергались воздействию радиации в дозе 0.1 или 1.0 Гр. При этом изменялись профили более чем 2000 транскриптов, среди которых были в основном модуляторы фактора p53, а также факторы каскада HITF-C/EBP (CCAAT/enhancer-binding protein, белок, связывающийся с энхансером CCAAT) [56]. Правенкумар и соавт. [5] в своей работе анализировали у *Danio rerio* экспрессию

некоторых генов, участвующих в остановке жизненного цикла клетки (*p53*), апоптозе (*Bax*) и репарации ДНК (*rad51*). Значительное увеличение экспрессии этих генов было обнаружено в клетках разных тканей взрослых особей *Danio rerio* при воздействии γ-излучения, начиная с 5.0 Гр. Похожие исследования с использованием в качестве модели японской медаки *Oryzias latipes* выявили сходные изменения профиля экспрессии генов, ассоциированных с репарацией ДНК и контролем клеточного цикла [91]. В дальнейшем это послужило толчком для предложения эффективного протокола по анализу изменений протеома *Oryzias latipes* после воздействия ионизирующего излучения, который, очевидно, можно использовать и для *Danio rerio* [92].

Эпигенетические процессы и изменение их протекания в связи с воздействием ионизирующего излучения также исследуют с использованием взрослых особей *Danio rerio*. Так, было установлено, что контакт с радионуклидами меняет паттерн метилирования у особей рыб разного пола [93].

Как и эмбрионы *Danio rerio*, взрослые особи этого организма могут использоваться для исследования эффективности радиопротекторов. В работе Мустафа и соавт. [94] в корм рыб *Danio rerio* в течение 60 сут добавлялись личинки *Chironomous* sp., инкапсулированные с мумие, после чего подвергали воздействию рентгеновского излучения в дозе 1.0 Гр. Через 72 ч после облучения экспериментальные группы сравнивали с контролем для оценки радиопротекторных свойств личинок *Chironomous* sp., инкапсулированных с мумие. При этом использовали различные показатели: от анализа изменения поведения до биохимических методов оценки степени формирования свободных радикалов кислорода (концентрация супероксиддисмутазы, глутатион пероксидазы, глутатионредуктазы). Степень повреждения ДНК оценивали с помощью метода ДНК-комет. Все перечисленные показатели были ниже в группах *Danio rerio*, которым предварительно добавляли в пищу личинки *Chironomous* sp., инкапсулированные с мумие, что доказало радиопротекторные свойства исследуемого агента.

Представленная выше часть нашего обзора, посвященная эмбрионам и взрослым особям *Danio rerio*, указывает на растущую популярность этих экспериментальных моделей для оценки эффектов воздействия ионизирующего излучения. Однако следует отметить, что сегодня в фундаментальных радиобиологических работах эмбрионы *Danio rerio* используются значительно чаще, чем взрослые особи. Приняв к сведению высокую радиорезистентность взрослых рыб, мы предполагаем, что особенно перспективно их использование в качестве животных моделей для скрининга экотоксикантов, потенцирующих радиационные факторы. Наиболее быстрым и простым методом биоиндикации, не требующим специфического технического оснащения, является микроядерный тест. Далее мы постараемся оценить перспективу использования взрослых особей в решении практических задач, связанных с биоиндикацией радиоактивных экотоксикантов с помощью эритроцитарного микроядерного экспресс-теста.

Микроядерный тест широко используется в радиобиологии и позволяет оценить геноповреждающий эффект различных агентов по количеству формирующихся в клетке микроядер [95]. Основным механизмом появления микроядер считают появление двуцепочечных разрывов ДНК, вследствие чего ацентрический фрагмент хромосомы не включается в состав основного ядра во время митоза и обособляется в виде микроядра [96, 97]. Кроме того, микроядра могут нести целую хромосому по причине нарушения формирования веретена деления и некорректного распределения хромосом по полюсам [98]. Микроядра у рыб меньших размеров по сравнению с микроядрами млекопитающих (примерно 1/30–1/10 часть диаметра основного клеточного ядра). Количество формирующихся микроядер в конечном счете зависит от степени пролиферации клеток, которая отличается в разных тканях у разных видов рыб. В акватоксикологии микроядерный тест нашел широкое применение. Так, в исследованиях разных лет на *Danio rerio* и других водных организмах эта методика уже использовалась для биоиндикации токсинов в водной среде [99–102]. Статистически значимое увеличение частоты встречаемости микроядер было обнаружено в клетках американских сомиков *Ictalurus punctatus*, обитавших в загрязненных вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС водоемах [103], а также обыкновенных щук *Esox Lucius*, подвергшихся воздействию радиоактивных веществ в результате аварии на Сибирском химическом комбинате [104]. Таким образом, микроядерный тест неоднократно использовался для выявления случаев радиационного поражения водной фауны. Мы предполагаем перспективу применения этой методики с целью радиоэкологического мониторинга на модели *Danio rerio* в связи с ее широкой распространенностью в дикой природе. Кроме того, взрослые особи *Danio rerio* также могут стать релевантной лабораторной тест-системой для оценки радиосенсибилизирующих и радиопротекторных свойств разрабатываемых агентов с применением микроядерного теста в связи с дешевизной и удобством поддержания аквакультуры. На сегодняшний день выполнено небольшое количество исследований с использованием микроядерного теста на взрослых особях *Danio rerio*.

В работе Правенкумар и соавт. [5] подсчитывалось количество микроядер в клетках *Danio rerio* при воздействии на взрослых особей γ-излучения в широком диапазоне доз (от 0.2 до 10.0 Гр) в разные интервалы взятия биологического материала (24, 48, 72 ч). Исследовались эритроциты периферической крови, клетки ткани жабр и мышечные клетки. Было обнаружено значительное увеличение частоты встречаемости микроядер во всех исследованных тканях после воздействия ионизирующего излучения. Увеличение количества микроядер при этом носило дозозависимый характер. Наименьшая частота встречаемости микроядер была характерна для 24 ч после облучения, средняя – для 48 ч и самая высокая – для 72 ч. С помощью метода ДНК-комет было установлено, что значительное увеличение повреждений ДНК также происходило при воздействии ионизирующего излучения, при этом степень повреждения снижалась от 24 к 72 ч после облучения. Таким образом, большая часть двуцепочечных разрывов претерпевала репарацию с разной степенью успеха к 72 ч и приводила к формированию микроядер.

В работе Хурем и соавт. эритроцитарный микроядерный тест также использовался в качестве методики для выявления геноповреждающего эффекта радиации на взрослых особей *Danio rerio* [89]. При этом воздействие излучения с обеими исследованными мощностями (0.145 и 0.88 мГр/мин) стимулировало формирование микроядер, отличное от контрольной группы. Данная работа посвящена исследованию воздействия ионизирующего излучения на фертильность рыб и продемонстрировала корреляцию репродуктивных нарушений с геноповреждающим эффектом радиации [89].

Техника микроядерного теста адаптируема даже под полевые условия и применяема в передвижной эколаборатории. Мазки, изготовленные в полевых условиях, могут быть оцифрованы на слайд-сканере и обработаны в референтной лаборатории. Применение микроядерного теста в исследованиях на рыбах может стать потенциальным универсальным методом для биоиндикационной оценки радиационного загрязнения внутренних водоемов. В связи с высокой радиоустойчивостью *Danio rerio* микроядерный тест на их модели представляется особенно перспективным для проведения экспресс-скрининга радиосенсибилизирующих свойств различных агентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пресноводные рыбы *Danio rerio* – это общепризнанная экспериментальная модель в медицине и биологии. Сегодня существенна также перспектива использования этих животных в качестве модели для радиобиологических исследований. В настоящий момент одновременно ведется большое число новых работ с использованием *Danio rerio*, проливающих свет на фундаментальные механизмы радиобиологического ответа, а также открывающих новые возможности для разработки потенциальных радиопротекторов и радиосенсибилизаторов. Проведение биоиндикационных тестов на *Danio rerio* возможно как в условиях экспериментальной лабораторной аквакультуры, так и на животных, изъятых из естественных местообитаний. Методические подходы к работе с *Danio rerio* разнообразны и предоставляют решение для широкого круга исследовательских задач. В этой связи целью данного обзора было знакомство широкой аудитории специалистов в области радиобиологии и радиоэкологии с различными по своей доступности, простоте исполнения и информативности работами, использующими *Danio rerio* в качестве модельного объекта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Real A., Sundell-Bergman S., Knowles J.F. et al.* Effects of ionizing radiation exposure on plants, fish and mammals: relevant data for environmental radiation protection // J. Radiol. Prot. 2004. V. 24. № 4A. P. 123–137.
2. *Mudbhary R., Sadler K.S.* Epigenetics, development and cancer: Zebrafish make their mark // Birth Defects Res. C Embryo Today. 2011. № 93. P. 194–203.
3. *Lieschke G.J., Currie P.D.* Animal models of human desease: Zebrafish swim into view // Nat. Rev. Genet. 2007. № 8. P. 353–367.
4. *Zhang R., He J., Wang X. et al.* Report of the Fifth Zebrafish Research Conference of China // Zebrafish. 2019. V. 16. № 1. P. 128–134.
5. *Praveen Kumar M.K.* Molecular Cytogenetic Studies on the Toxic Effects of Gamma Radiation in Zebrafish and Common Carp: Дис. ... д-ра биол. наук. India, Goa University, 2017.
6. *Kong E., Cheng S., Yu K.* Zebrafish as an in vivo model to assess epigenetic effects of ionizing radiation // Int. J. Mol. Sci. 2016. V. 17. № 12. P. e2108.
7. *Lu B., Hwang M., Yong C. et al.* Zebrafish as a model system to screen radiation modifiers // Curr. Genomics. 2007. V. 8. № 6. P. 360–369.
8. *Коржж В., Кондричин І., Вінатa Ц.* Даніо – нова модельна система експериментальної біології // Цитология и генетика. 2018. Т. 52. № 6. С. 18–29. [*Korzh V., Kondrichin I., Vinata Ts.* Danio – nova model'na sistema experimental'noyi biologiyi // Citologiya i genetika. 2018. T. 52. № 6. C. 18–29. (In Ukrain)]
9. *Geiger G.A., Parker S.E., Beothy A.P. et al.* Zebrafish as a ''biosensor''? Effects of ionizing radiation and amifostine on embryonic viability and development // Cancer Res. V. 66. № 16. P. 8172–8181.
10. Sanger Institute. Zebrafish genome project. Available online: http://www.sanger.ac.uk/Projects/D_rerio/
11. E!Ensembl. Available online: http://www.ensembl.org/Danio_rerio?Info?Index

12. *Howe K., Clark M.D., Torroja C.F. et al.* The Zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome // Nature. 2013. № 496. P. 498–503.
13. *Trede N.S., Langenau D.M., Traver D. et al.* The use of Zebrafish to understand immunity // Immunity. 2004. № 20. P. 367–379.
14. *Zon L.I., Peterson R.T.* In vivo drug discovery in the zebrafish // Nat. Rev. Drug. Discov. 2005. № 4. P. 35–44.
15. *Zon L.I.* Zebrafish: a new model for human disease // Genome Res. 1999. № 9. P. 99–100.
16. *Avdesh A., Chen M., Martin-Iverson M.T. et al.* Regular care and maintenance of a zebrafish (Danio rerio) laboratory: an introduction // J. Vis. Exp. 2012. № 69. P. 1–8.
17. *Peng W.H., Lee Y.C., Chau Y.P. et al.* Short-Term Exposure of Zebrafish Embryos to Arecoline Leads to Retarded Growth, Motor Impairment, and Somite Muscle Fiber Changes // Zebrafish. 2015. V. 15. № 1. P. 58–70.
18. *Hoo J.Y., Kumari Y., Shaikh M.F. et al.* Zebrafish: A Versatile Animal Model for Fertility Research // Biomed. Res. Int. 2016. V. 2016. P. 1–20.
19. *Kimmel C.B., Ballard W.W., Kimmel S.R. et al.* Stages of embryonic development of the zebrafish // Dev. Dynam. 1995. V. 203. P. 253–310.
20. *Jarvis R.B., Knowles J.F.* DNA damage in zebrafish larvae induced by exposure to low-dose rate-radiation: detection by the alkaline comet assay // Mutat. Res. 2003. V. 542. № 1–2. P. 63–69.
21. *Klingerman A.D.* Fishes as biological detectors of the effects of genotoxic agents // Mutagenicity: New Horizons in Genetic Toxicology / Ed. J.A. Heddle. New York: Academic Press, 1985. P. 435–453.
22. *Chen E., Ekker S. C.* Zebrafish as a genomics research model // Curr. Pharmaceut. Biotechnol. 2004. V. 5. № 5. P. 409–413.
23. *Nasevicius A., Ekker S.C.* The zebrafish as a novel system for functional genomics and therapeutic development applications // Curr. Opin. Mol. Ther. 2001. V. 3. № 3. P. 224–228.
24. The 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. 1991. Ann. ICRP. V. 21. № 1–3. P. 1–201.
25. The 2007. Recommendations of the International Comission on Radiological Protection. ICRP publication 103. Ann. ICRP. 2007. V. 37. № 2–4. P. 1–332.
26. *Anbumani S., Mohankumar M.N.* Gamma radiation induced micronuclei and erythrocyte cellular abnormalities in the fish Catla catla // Aquat. Toxicol. 2012. № 122–123. P. 125–132.
27. *Streisinger G.* Extrapolations from species to species and from various cell types in assessing risks from chemical mutagens // Mutat. Res. 1983. № 114. P. 93–105.
28. *Gamse J.T., Gorelick D.A.* Mixtures, metabolites, and mechanisms: Understanding toxicology using zebrafish // Zebrafish. 2016. V. 13. № 5. P. 377–378.
29. *Carvan M.J. 3rd, Dalton T.P., Stuart G.W. et al.* Transgenic zebrafish as sentinels for aquatic pollution // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2000. № 919. P. 133–147.
30. *Gorelick D.A., Iwanowicz L.R., Hung A.L. et al.* Transgenic zebrafish reveal tissue-specific differences in estrogen signaling in response to environmental water samples // Environ. Health Perspect. 2014. V. 122. № 4. P. 356–362.
31. *Gorelick D.A., Pinto C.L., Hao R. et al.* Use of reporter genes to analyze estrogen response: The transgenic zebrafish model // Meth. Mol. Biol. 2016. № 1366. P. 315–325.
32. *Lee O., Green J.M., Tyler C.R.* Transgenic fish systems and their application in ecotoxicology // Crit. Rev. Toxicol. 2015. V. 45. № 2. P. 124–141.
33. *Chakrabarti S., Streisinger G., Singer F. et al.* Frequency of γ-ray induced specific locus and recessive lethal mutations in mature germ cells of the zebrafish, Brachydanio rerio // Genetics. 1983. V. 103. № 1. P. 109–123.
34. *Walker C., Streisinger G.* Induction of mutations by γ-rays in pregonial germ cells of zebrafish embryos // Genetics. 1983. V. 103. № 1. P. 125–136.
35. *Lemos J., Neuparth T., Trigo M. et al.* Single low-dose ionizing radiation induces genotoxicity in adult zebrafish and its non-irradiated progeny // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2017. V. 98. № 2. P. 190–195.
36. *Ikegami R., Rivera Bennets A.K., Brooker D.L. et al.* Effect of inhibitors of DNA replication on early zebrafish embryos: Evidence for coordinate activation of multiple intrinsic cell-cycle checkpoints at the mid-blastula transition // Zygote. 1997. V. 5. № 2. P. 153–175.
37. *Bai T., Seebald J.L., Kim K.E. et al.* Disruption of zebrafish cyclin G-associated kinase (GAK) function impairs the expression of Notch-dependent genes during neurogenesis and causes defects in neuronal development // BMC Dev. Biol. 2010. № 10. P. 1–17.
38. *AshaRani P.V., Low Kah M.G., Hande M.P. et al.* Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells // ACS Nano. 2009. V. 3. № 2. P. 279–290.
39. *Embry M.R., Belanger S.E., Braunbeck T.A. et al.* The fish embryo toxicity test as an animal alternative method in hazard and risk assessment and scientific research // Aquat. Toxicol. 2010. V. 97. № 2. P. 79–87.
40. *Bourrachot S., Simon O., Gilbin R.* The effects of waterborne uranium on the hatching success, development and survival of early life stages of zebrafish Danio rerio // Aquat. Toxicol. 2008. V. 90. № 1. P. 29–36.
41. *Fraysse B., Mons R., Garric J.* Development of a zebrafish 4-day embryo-larval bioassay to assess toxicity of chemicals // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2006. V. 63. № 2. P. 253–267.
42. *McAleer M.F., Davidson C., Davidson W.R.* Novel use of zebrafish as a vertebrate model to screen radiation protectors and sensitizers // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2005. V. 61. № 1. P. 10–13.
43. *Nguyen L.T., Janssen C.R.* Embryo-larval toxicity tests with the African catfish (Clarias gariepinus): Comparative sensitivity of endpoints // Arch. Environ. Con. Toxicol. 2002. V. 42. № 2. P. 256–262.
44. *Dethlefsen V., Westernhagen H., Tüg H. et al.* Influence of solar ultraviolet-B on pelagic fish embryos: osmolality, mortality and viable hatch // Helgoland Marine Res. 2001. № 55. P. 45–55.

45. *Mahmoud U.M., Mekkawy I.A.A., Sayed A.E.D.H.* Ultraviolet radiation-A (366 nm) induced morphological and histological malformations during embryogenesis of Clarias gariepinus (Burchell, 1822) // J. Photochem. & Photobiol. B: Biology. 2009. № 95. P. 117–128.

46. *Yasuda T., Aoki K., Matsumoto A. et al.* Radiation-induced brain cell death can be observed in living medaka embryos // J. Radiat. Res. 2006. № 47. P. 295–303.

47. *Kuhne W.W., Gersey B.B., Wilkins R. et al.* Biological effects of high-energy neutrons measured in vivo using a vertebrate model // Radiat. Res. 2009. № 172. P. 473–480.

48. *Hyodo-Taguchi Y., Etoh H.* Vertebral malformations in medaka (teleost fish) after exposure to tritiated water in the embryonic stage // Radiat. Res. 1993. № 135. P. 400–404.

49. *Wittbrodt J., Shima A., Schartl M.* Medaka – a model organism from the far East // Nat. Rev. Genet. 2002. V. 3. № 1. P. 53–64.

50. *Furutani-Seiki M., Wittbrodt J.* Medaka and zebrafish, an evolutionary twin study // Mech. Develop. 2004. V. 121. № 7–8. P. 629–637.

51. *Simon O., Massarin S., Coppin F. et al.* Investigating the embryo/larval toxic and genotoxic effects of γ-irradiation on zebrafish eggs // J. Environ. Radioact. 2011. V. 102. № 11. P. 1039–1044.

52. IAEA, 1992. International Atomic Energy Agency. Effects of Ionizing Radiation on Plants and Animals at Levels Implied by Current Radiation Protection Standards. Technical Reports Series # 332. Vienna: IAEA, 1992.

53. *Miyachi Y., Kanao T., Okamoto T.* Marked depression of time interval between fertilization period and hatching period following exposure to low-dose X-rays in zebrafish // Environ. Res. 2003. V. 93. № 2. P. 216–219.

54. *Little J.B.* Induction of genetic instability by ionizing radiation // C.R. Acad. Sci. III. 1999. № 322. P. 127–134.

55. *Kumaravel T.S., Jha A.N.* Reliable Comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals // Mutat. Res. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2006. V. 605. № 1–2. P. 7–16.

56. *Jaafar L., Podolsky R.H., Dynan W.S.* Long-term effects of ionizing radiation on gene expression in a zebrafish model // PLoS One. 2013. V. 8. № 7. P. 1–10.

57. *Bladen C.L., Lam W.K., Dynan W.S. et al.* DNA damage response and Ku80 function in the vertebrate embryo // Nucl. Acids Res. 2005. V. 33. № 9. P. 3002– 3010.

58. *McAleer M.F., Duffy K.T., Davidson W.R. et al.* Antisense inhibition of cyclin D1 expression is equivalent to flavoperidol for radiosensitization of zebrafish embryos // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2006. V. 66. № 2. P. 546–551.

59. *Daroczi B., Kari G., McAleer M.F.* In vivo radioprotection by the fullerene nanoparticle DF-1 as assessed in a zebrafish model // Clin. Cancer Res. 2006. V. 12. № 23. P. 7086–7091.

60. *Gagnaire B., Cavalié I., Pereira S. et al.* External gamma irradiation-induced effects in early-life stages of zebrafish, Danio rerio //Aquat. Toxicol. 2015. V. 169. P. 69–78.

61. *Anderson D., Brinkworth M.H.* Male-mediated Developmental toxicity. Royal Society of chemistry. Cambridge, UK, 2007.

62. *Jirtle R.L., Skinner M.K.* Environmental epigenomics and disease susceptibility // Nat. Rev. Genet. 2007. V. 8. № 4. P. 253.

63. *Ilnytskyy Y., Kovalchuk O.* Non-targeted radiation effects – an epigenetic connection // Mutat. Res. 2011. V. 714. № 1–2. P. 113–125.

64. *Franco R., Schoneveld O., Georgakilas A.G. et al.* Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis // Cancer Lett. 2008. № 266. P. 6–11.

65. *Kamstra J.H., Hurem S., Martin L.M. et al.* Ionizing radiation induces transgenerational effects of DNA methylation in zebrafish // Sci. Per. 2018. V. 8. № 1. P. 1–13.

66. *Szabó E.R., Brand M., Hans S. et al.* Radiobiological effects and proton RBE determined by wildtype zebrafish embryos // PLoS One. 2018. V. 13. № 11. P. 1–18.

67. *Li X., Zha X., Wang Y. et al.* Toxic effects and foundation of proton radiation on the early-life stage of zebrafish development // Chemosphere. 2018. № 200. P. 302–312.

68. *Yum E.H.W., Ng C.K.M., Lin A.C.C. et al.* Experimental setup for studying the effects of alpha particles on zebrafish embryos // Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. Section B. Beam Interact. Mat. Atoms. 2007. V. 264. № 1. P. 171–176.

69. *Kong E.Y., Choi V.W.Y., Cheng S.H. et al.* Some properties of the signals involved in unirradiated zebrafish embryos rescuing α-particle irradiated zebrafish embryos // Int. J. Radiat. Biol. 2014. V. 90. № 12. P. 1133–1142.

70. *Choi V.W.Y. Konishi T., Oikawa M. et al.* Adaptive response in zebrafish embryos induced using microbeam protons as priming dose and X-ray photons as challenging dose // J. Radiat. Res. 2010. V. 51. № 6. P. 657–664.

71. *Choi V.W.Y., Konishi T., Oikawa M. et al.* The threshold number of protons to induce an adaptive response in zebrafish embryos // J. Radiol. Prot. 2013. V. 33. № 1. P. 91.

72. *Ng C.Y.P., Kong E.Y., Konishi T. et al.* Low-dose neutron dose response of zebrafish embryos obtained from the Neutron exposure Accelerator System for Biological Effect Experiments (NASBEE) facility // Radiat. Phys. Chem. 2015. V. 114. P. 12–17.

73. *Yabu T., Todoriki S., Yamashita M.* Stress-induced apoptosis by heat shock, UV and γ-ray irradiation in zebrafish embryos detected by increased caspase activity and whole-mount TUNEL staining // Fisher. Sci. 2001. V. 67. № 2. P. 333–340.

74. *Daroczi B., Kari G., Ren Q. et al.* Nuclear factor κB inhibitors alleviate and the proteasome inhibitor PS-341 exacerbates radiation toxicity in zebrafish embryos // Mol. Cancer Ther. 2009. V. 8. № 9. P. 2625–2634.

75. *Kong E.Y., Yeung W.K., Chan T.K. et al.* Exogenous nitric oxide suppresses in vivo X-ray-induced targeted and non-targeted effects in zebrafish embryos // Int. J. Mol. Sci. 2016. V. 17. № 8. P. 1321.

76. *Driver C.J.* Ecotoxicity literature review of selected Hanford site contaminants. Richland, WA, USA: Pacific Northwest Lab., 1994.

77. *Morgan W.F., Sowa M.B.* Effects of ionizing radiation in nonirradiated cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. V. 102. № 40. P. 14127–14128.

78. *Bacq Z.M., Alexander P.* Fundamentals of radiobiology. London: Butterworths Publication Ltd., 1954.

79. *Davidson A.J., Zon L.I.* The "definitive" (and "primitive") guide to zebrafish hematopoiesis // Oncogene. 2004. V. 23. № 43. P. 7233.

80. *Traver D., Herbomel P., Patton E.E. et al.* The zebrafish as a model organism to study development of the immune system // Adv. Immun. 2003. № 81. P. 253.

81. *Kaweewat K., Hofer R.* Effect of UV-B radiation on goblet cells in the skin of different fish species // J. Photochem. Photobiol. B. 1997. V. 41. № 3. P. 222–226.

82. *Sharma J.G., Chakrabarti R.* Effects of UV-B radiation on the gills of *Catla catla* during early development // Toxicol. Environ. Chem. 2006. V. 88. № 2. P. 367–371.

83. *Reinardy H.C., Teyssie J.L., Jeffree R.A. et al.* Uptake, depuration, and radiation dose estimation in zebrafish exposed to radionuclides via aqueous or dietary routes // Sci. Total Environ. 2011. V. 409. № 19. P. 3771–3779.

84. *Jeffree R.A., Teyssie J.L.* Is there a chondrichthyan bioaccumulation paradigm // CYBIUM. 2006. V. 30. № 4. P. 113–117.

85. *Mathews T., Fisher N.S., Jeffree R.A.* Assimilation and retention of metals in teleost and elasmobranch fishes following dietary exposure // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2008. № 360. P. 1–12.

86. *Sloman K.A., Wilson R.W., Balshine S.* Behavior and physiology of Fish // Fish Physiol. 2006. № 24. P. 1–504.

87. *Mothersill C., Larivière D., Smith R. W. et al.* Dosimetric analysis of fathead minnow (Pimephales promelas, Rafinesque, 1820) exposed via ingestion to environmentally relevant activities of Ra-226 for two years // Int. J. Radiat. Biol. 2013. V. 90. № 2. P. 169–178.

88. *Mothersill C., Smith R., Lariviere D., Seymour C.* Chronic exposure by ingestion of environmentally relevant doses of (226)Ra leads to transient growth perturbations in fathead minnow (Pimephales promelas, Rafinesque, 1820) // Int. J. Radiat. Biol. 2013. V. 89. № 11. P. 950–964.

89. *Hurem S., Gomes T., Brede D.A. et al.* Gamma irradiation during gametogenesis in young adult zebrafish causes persistent genotoxicity and adverse reproductive effects // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2018. № 154. P. 19–26.

90. *Freeman J.L., Weber G.J., Peterson S.M. et al.* Embryonic ionizing radiation exposure results in expression alterations of genes associated with cardiovascular and neurological development, function and disease and modified cardiovascular function in zebrafish // Front. Genet. 2014. № 5. P. 268–279.

91. *Smith R.W., Wang J., Mothersill C.E. et al.* Proteomic changes in the gills of wild-type and transgenic radiosensitive medaka following exposure to direct irradiation and to X-ray induced bystander signals // Biochim. Biophys. Acta. 2011. V. 1814. P. 290–298.

92. *Pérez-Gélvez Y., Unger S., Gutiérrez-Sánchez G. et al.* An Effective Protocol for Proteome Analysis of Medaka (Oryzias latipes) after Acute Exposure to Ionizing Radiation // Meth. Protocols. 2019. № 2 (3). Pii: E66.

93. *Gombeau K., Pereira S., Ravanat J.L. et al.* Depleted uranium induces sex- and tissue-specific methylation patterns in adult zebrafish // J. Environ. Radioact. 2016. № 154. P. 25–33.

94. *Musthafa M.S., Athaullah A., Andumani S. et al.* Ameliorative efficacy of bioencapsulated Chironomous larvae with Shilajit on Zebrafish (Danio rerio) exposed to Ionizing radiation // Appl. Radiat. Isot. 2017. № 128. P. 108–113.

95. *Fenech M.* Cytokinesis-block micronucleus cytome assay // Nat. Protoc. 2007. № 2. P. 1084–1104.

96. *Fenech M., Kirsch-Volders M., Natarajan A.T. et al.* Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells // Mutagenesis. 2011. V. 26. № 1. P. 125–132.

97. *Анбумани С., Ливанова А.А., Федорцева Р.Ф.* Ядерные аномалии соматических клеток как универсальные индикаторы воздействия ионизирующего излучения // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2017. № 2. С. 66–75. [*Anbumani S., Livanova A.A., Fedortseva R.F.* Yadernye anomalii somaticheskich kletok kak universal'nye indicatory vozdeystviya ioniziruyushchego izlucheniya // Mediko-biologicheskie i sotsial'no-psikhologicheskie problem bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh. 2017. № 2. P. 66–75. (In Russian)]

98. *Norppa H., Falck G.C.M.* What do human micronuclei contain? // Mutagenesis. 2003. V. 18. № 3. P. 221–233.

99. *Krishnaraj C., Harper S.L., Yuna S.I. In Vivo* toxicological assessment of biologically synthesized silver nanoparticles in adult Zebrafish (*Danio rerio*) // J. Hazard Mater. 2016. № 301. P. 480–491.

100. *Şişman T.* Early life stage and genetic toxicity of stannous chloride on zebrafish embryos and adults: toxic effects of tin on zebrafish // Environ. Toxicol. 2011. V. 26. № 3. P. 240–249.

101. *Oliveira R., Domingues I., Koppe Grisolia C. et al.* Effects of triclosan on zebrafish early-life stages and adults // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2009. V. 16. № 6. P. 679–688.

102. *Kovács R., Csenki Z., Bakos K. et al.* Assessment of toxicity and genotoxicity of low doses of 5-fluorouracil in zebrafish (Danio rerio) two-generation study // Water Res. 2015. № 77. P. 201–212.

103. *Sugg D.W., Bickham J.W., Brooks J.A. et al.* DNA damage and radiocesium in channel cat fish from Chernobyl // Environ. Toxicol. Chem. 1996. № 15. P. 1057–1063.

104. *Ilyinskikh N.N., Ilyinskikh E.N., Ilyinskikh I.N.* Micronucleated erythrocytes frequency and radiocesium bioconcentration in pikes (Esox lucius) caught in the Tom River near the nuclear facilities of the Siberian Chemical Complex (Tomsk-7) // Fund. Molec. Mechan. Mutagen. 1998. № 421. P. 197–203.

Danio rerio as an Experimental Model in Radiobiology

A. A. Livanova[a,#], A. V. Zavirsky[a], and V. Yu. Kravtsov[a]

[a] *S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia*

[#] *E-mail: alexandralivanova@mail.ru*

The review is focused on the analysis of published research using *Danio rerio* embryos, larvae or adult fish as an animal model for radiobiological experiments. Freshwater fish *Danio rerio*, known in foreign literature as *Zebrafish*, has already become a world-famous model in developmental biology, molecular and cellular biology, fundamental genetics, and toxicology. Currently, the amount of studies using *Danio rerio* as a model in both fundamental radiobiological experiments or radioecological monitoring of pollution of aquatic ecosystems is increasing dramatically. In the experiment, both embryos or larvae and adult fish are equally used. At the same time, embryos and larvae are extremely radiosensitive, which makes it possible to study the effects of radiation exposure in small doses, and on the other hand, adult fish are characterized by extreme radioresistance, which determines the prospect of their use for assessing the activity of agents that potentiate the mutagenic effect of ionizing radiation. The set of methodological tools for working with *Danio rerio* is quite large, and the preference of the researcher is determined by the specific tasks and technical equipment of the laboratory.

Keywords: *Danio rerio*, zebrafish, radioecological monitoring, bioindication, model organism