

Potencialidades del pez cebra (*Danio rerio*) para las investigaciones biomédicas y toxicológicas

Potential of the Zebrafish (*Danio rerio*) for Biomedical and Toxicological Investigations

Ana Cristina Noa Rodríguez¹ <https://orcid.org/0000-0003-2857-1385>

Yordanka Domínguez Linares¹ <https://orcid.org/0000-0001-6199-8757>

Odette Beiro Castro¹ <https://orcid.org/0000-0002-2403-5799>

Alejandro Felipe González² <https://orcid.org/0000-0003-2287-254X>

Yamilet Irene Gutiérrez Gaitén^{2*} <https://orcid.org/0000-0002-8885-4849>

¹Centro Nacional de Toxicología (CENATOX), Subdirección de Evaluaciones Toxicológicas y del Medio Ambiente (SETMA). La Habana, Cuba.

²Universidad de la Habana (UH), Departamento de Farmacia. Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). La Habana, Cuba.

*Autor de correspondencia: yamiletgut@gmail.com, yamiletgg@ifal.uh.cu

RESUMEN

Introducción: El pez cebra (*Danio rerio*) es considerado como uno de los modelos experimentales emergentes en investigaciones biomédicas y toxicológicas. Cualidades como alta fecundidad, transparencia en embriones y larvas, rápido desarrollo desde el estadio embrionario hasta adulto, bajo costo en infraestructura, insumos y reactivos para su crianza y reproducción lo posicionan como alternativa atractiva para estos fines.

Objetivo: Recopilar información sobre potencialidades del pez cebra en investigaciones biomédicas y toxicológicas y sus posibles aplicaciones en el Centro Nacional de Toxicología.

Métodos: Se hizo una revisión sobre la temática, se consultaron las bases de datos Pubmed/Medline, Scopus, Google académico, SciELO. Se recuperaron 14 238 artículos que trataban el tema de estudio, de los que se procesaron 56 que aplicaran este biomodelo en medicina de precisión, tamizaje farmacológico y toxicológico de nuevos medicamentos, comprensión de mecanismos fisiológicos de diversas enfermedades, estudio de mecanismos de acción de productos naturales, evaluaciones ecotoxicológicas en nanopartículas, embriotoxicidad y teratogenicidad entre algunas de las principales aplicaciones descritas en la literatura científica. Además, se identificaron potencialidades de *Danio rerio* para desarrollo científico en Centro Nacional de Toxicología y formación de estudiantes de medicina y otras especialidades afines.

Conclusiones: El pez cebra es un modelo animal emergente ampliamente usado en investigaciones toxicológicas y biomédicas con potencialidades de aplicación en Cuba.

Palabras clave: *Danio rerio*; pez cebra; toxicología; biomedicina.

ABSTRACT

Introduction: Zebrafish (*Danio rerio*) is considered as one of the emerging experimental models in biomedical and toxicological researches. Qualities such as high fecundity, transparency in embryos and larvae, rapid development from embryonic to adult stage, low cost in infrastructure, inputs and reagents for breeding and reproduction position it as an attractive alternative for these purposes.

Objective: To gather information on the potential of the zebrafish in biomedical and toxicological research and its possible applications at the National Center of Toxicology.

Methods: A review was made on the subject, Pubmed/Medline, Scopus, Google Scholar, SciELO databases were consulted. A total of 14,238 articles dealing with the topic of study were retrieved, of which 56 were processed that applied this biomodel in precision medicine, pharmacological and toxicological screening of new drugs, understanding of physiological mechanisms of various diseases, study of mechanisms of action of natural products, ecotoxicological evaluations in

nanoparticles, embryotoxicity and teratogenicity, among some of the main applications described in the scientific literature. In addition, potentialities of *Danio rerio* were identified for scientific development in National Toxicology Center and training of medical students and other related specialties.

Conclusions: Zebrafish is an emerging animal model widely used in toxicological and biomedical research with potential applications in Cuba.

Keywords: *Danio rerio*; zebrafish; toxicology; biomedicine.

Recibido: 03/03/2023

Aprobado: 22/10/2023

Introducción

La investigación preclínica en animales de experimentación permite identificar nuevas sustancias con potencial diagnóstico o terapéutico, reevaluar fármacos ya conocidos e identificar aspectos relacionados con la eficacia y la seguridad de múltiples sustancias y procedimientos.⁽¹⁾ Además, facilita la comprensión de varios procesos biológicos y patológicos desde una perspectiva molecular, al poder contemplar las interacciones entre células, tejidos y órganos, lo cual es una limitante de los estudios *in vitro*.⁽²⁾

Su fundamento técnico parte de la similitud entre animales y seres humanos, gracias a la conservación de secuencias de ADN de los organismos que expresan metabolismos parecidos entre ellos, lo cual permite que los resultados obtenidos en los primeros puedan ser traspolados a los segundos.⁽³⁾

El uso de animales en la investigación biomédica ha sido y es de vital importancia para el desarrollo de la vida humana, debido a que genera información sobre la biología humana y las ciencias de la salud para promover la seguridad y eficacia de potenciales tratamientos,⁽⁴⁾ pero nuevas tendencias sugieren reducir el uso de animales de laboratorio por considerarse una práctica cruel e inhumana. Por tanto, la búsqueda de nuevos métodos alternativos se convierte en una necesaria

herramienta para las investigaciones biomédicas y toxicológicas, las cuales se basan en el cumplimiento de las 3R (reemplazo, refinamiento y reducción).⁽⁵⁾

En este sentido, *Danio rerio* como modelo ha despertado el interés de la comunidad científica en los últimos tiempos debido a su bajo costo de mantenimiento, alta fecundidad, pequeño tamaño, fertilización externa, gran número de descendientes, embriones transparentes, ciclo de vida corto, similitud genética con los humanos, entre otros beneficios.⁽⁶⁾ y motivó esta revisión con el objetivo de recopilar información sobre sus potencialidades en investigaciones biomédicas, toxicológicas y sus posibles aplicaciones en el Centro Nacional de Toxicología (CENATOX).

Métodos

Se realizó una búsqueda bibliográfica en las bases de datos Pubmed/Medline, Scopus, Google académico y SciELO, se combinaron diferentes palabras clave como *Danio rerio*, *Brachidanio rerio*, pez cebrá, biomedicina, toxicología, larvas y embriones.

Como criterios de inclusión se tuvieron en cuenta todos los artículos en idioma español e inglés relacionados con las temáticas de interés en el período comprendido entre los años 2012-2022. En la búsqueda se identificaron 14 238 artículos, de los cuales se seleccionaron y procesaron un total de 56 artículos.

Se realizó una recopilación actualizada sobre los principales estudios realizados en *Danio rerio* para las investigaciones fármaco-toxicológicas y biomédicas en el contexto internacional.

En Cuba existen pocas referencias del uso de este biomodelo a pesar de su creciente desarrollo en el mundo y de las ventajas que ofrece respecto a otros modelos animales.

Características generales del pez cebrá

El pez cebrá (*Danio rerio*) es un pez pequeño de agua dulce, perteneciente a la familia *Cyprinidae*. Es originario de ríos de la India y está distribuido en regiones de Bangladesh, Nepal, Myanmar (Birmania) y Pakistán, aunque se puede encontrar en

acuarios de todo el mundo debido a que se ha popularizado como mascota. Por tanto, su adquisición es relativamente fácil y poco costosa.⁽⁷⁾ Presenta dimorfismo sexual, siendo la hembra más robusta que el macho, con el vientre más voluminoso (en edad fértil) y de color plateado. El macho es más estilizado y su vientre presenta una tonalidad más amarillenta (fig. 1). Cuando la hembra está cargada de huevos esto se hace más evidente.⁽⁸⁾



Fuente: Mi acuario. Disponible en: <https://www.miacuario.net/peces/cebra>

Fig. 1- Pez cebra (*D. rerio*). Diferencias morfológicas externas. A) hembras y B) machos.

Los embriones de pez cebrá han sido muy empleados en diversas investigaciones, y se consideran uno de los ejemplos de aplicación del principio de reemplazo de animales de experimentación. Esto se debe a que las hembras pueden proporcionar hasta 400 ovocitos por semana que se desarrollan rápidamente una vez fecundados, lo cual garantiza camadas numerosas en pocos días, que se pueden mantener en un acuario sencillo. Además, los huevos son semitransparentes, lo que permite hacer observaciones morfológicas en un microscopio óptico,⁽⁹⁾ característica que ha sido aprovechada para los estudios de embriotoxicidad y genotoxicidad.⁽¹⁰⁾

Su desarrollo ocurre de forma rápida, durando aproximadamente de dos a cuatro días. Al primer día después de la fecundación (dpf) se logran evidenciar los latidos

del corazón y del sistema nervioso en funcionamiento. En el segundo día, el embrión empieza a pigmentarse y su sistema inmunitario innato es funcional, aunque el sistema inmune adquirido se desarrolla de cuatro a seis semanas posteriores a la fecundación.⁽¹¹⁾ En un período de 48 a 72 h, la mayoría de los órganos se encuentran totalmente desarrollado, excepto los del tracto gastrointestinal, que requieren de 96 h para su total desarrollo.⁽¹²⁾ Característica que se vuelve de especial utilidad en las investigaciones científicas ya que permite obtener resultados en un menor tiempo.

Evolución del pez cebra como organismo modelo

El empleo del pez cebra en la investigación data del año 1936. Algunos científicos como Jane Oppenheimer, lo propusieron como un sistema adecuado en embriología experimental.

Uno de los primeros en incorporar el pez cebra a su laboratorio fue George Streisinger (Universidad de Oregón) cuya investigación duró unos 10 años e invirtió gran parte de ese tiempo en estudiar la morfología y desarrollo embrionario del pez cebra, al elaborar las técnicas genéticas y de mantenimiento necesarias para su manipulación.⁽¹³⁾

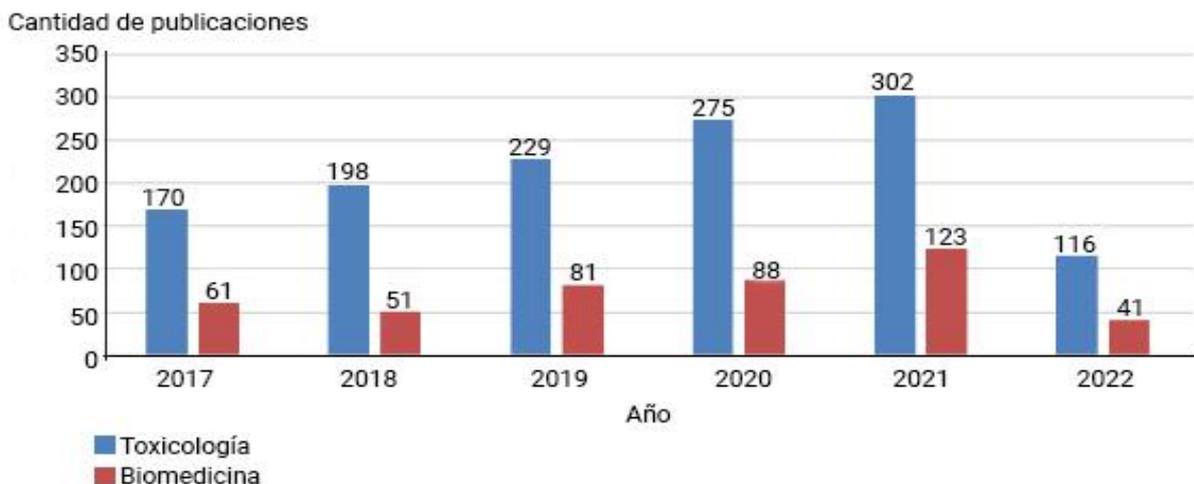
En 1980, el pez cebra se empleó por primera vez en la Universidad de Oregón para investigaciones genéticas, donde se postuló a este animal como una alternativa para el estudio de la biología del desarrollo. Entre los años 1981 y 1995 se publicaron estudios sobre la creación de clones homocigóticos de este pez, la inducción de mutaciones en sus células embrionarias y las fases del desarrollo embrionario.⁽¹³⁾

No obstante, el verdadero auge de este animal como biomodelo se alcanzó en el año 1996 a partir de varios trabajos publicados en la revista *Developments*⁽¹⁴⁾ sobre el pez cebra y sus mutantes, investigaciones que supusieron un gran avance al ser la identificación de mutantes una de las estrategias más importantes en los estudios de muchas áreas de la biología.⁽¹⁴⁾

A mediados del año 1997, el Instituto Nacional de Salud (NIH), [del inglés National Institutes of Health] comenzó a promover el uso del pez cebra (*Danio rerio*), como respuesta institucional a las recomendaciones de la comunidad científica

internacional, que favorecían el uso de este modelo en investigaciones científicas, especialmente en biomedicina.⁽¹⁵⁾ En la actualidad, numerosas publicaciones avalan el uso del pez cebra como organismo modelo en biomedicina y toxicología, tendencia que continua en crecimiento.

En un análisis realizado el 28 de marzo 2022 en la base de datos PUBMED/MEDLINE, usando las palabras claves “zebrafish toxicology” y “zebrafish biomedicine”, se pudo observar un incremento sostenido en el total de publicaciones por año durante el período 2017-2021, donde las evaluaciones toxicológicas fueron evidentemente predominantes. Incluso, ya en el primer trimestre del año 2022 se reportaron 116 publicaciones de las cuales 41 de ellas fueron sobre el uso del pez cebra en toxicología y biomedicina, respectivamente; lo que representa entre el 35-40 % del total de publicaciones respecto al año anterior (fig. 2).



Fuente: base de datos PUBMED/MEDLINE consultada 23/03/2022 palabras claves *zebrafish toxicology* y *zebrafish biomedicine*

Fig. 2- Cantidad de artículos relacionados a estudios toxicológicos y biomédicos en pez cebra publicados por año (2017-2022)

Este interés de la comunidad científica internacional por el pez cebra como modelo animal se debe a las ventajas que este ofrece respecto a otros biomodelos, algunas de ellas discutidas anteriormente como su pequeño tamaño, fácil reproducción y mantenimiento, lo cual reduce los costos de investigación y lo convierte en un modelo económico por la cantidad de ovocitos que proporciona la hembra en cada

camada, su rápido desarrollo embrionario y la semitransparencia de sus huevos que permiten su observación en microscopios ópticos.⁽¹⁶⁾

Por lo que este biomodelo cumple con el principio de las 3Rs brindando la posibilidad de predecir la toxicidad en humanos por ensayos más rápidos y precisos en los cuales los métodos de reemplazos pueden ser relativos o parciales al ser posible utilizar animales que tienen un menor potencial para la percepción del dolor y de que el uso de sus larvas en estudios biomédicos y toxicológicos cumple con el principio de reemplazamiento y en cuanto al principio de reducción, sus larvas pueden ser usadas como un primer modelo para la clasificación de drogas antes de realizar estudios en mamíferos.

El uso de sus embriones permite un refinamiento en las investigaciones al ser parcialmente translúcidos.⁽⁶⁾ Por tanto, este biomodelo utiliza un número limitado de animales, reduciendo el dolor y el sufrimiento animal.

Por otra parte, el pez cebra comparte el 70 % del genoma humano y se considera que alrededor del 84 % de sus genes se asocia a enfermedades que afectan al hombre, lo cual permite una mejor comprensión de las enfermedades humanas, sus tratamientos y efectos sobre la salud a pesar de la distancia evolutiva. Sobre todo, al ser muy utilizados en el estudio de enfermedades que tienen causas genéticas por la facilidad que ofrecen para la inducción de mutaciones en sus genes.⁽¹⁷⁾

Desde el punto de vista ambiental este organismo muestra sensibilidad a diferentes contaminantes siendo un modelo ideal para la vigilancia del medio ambiente.

Los cambios característicos en la morfología, la expresión génica, el comportamiento y fisiología son indicadores biológicos contundentes y propios de esta especie que lo convierten en un bioindicador por excelencia del ambiente acuático.⁽¹⁸⁾

Por lo que es evidente que el pez cebra se ha erigido como un biomodelo de gran utilidad para las investigaciones con interés creciente en la comunidad científica, y se evidencia en el número de publicaciones anuales sobre la temática.

Aplicación del pez cebra en investigaciones biomédicas

En la tabla 1 se muestran algunos de los principales ejemplos de aplicación del pez cebra en estudios biomédicos.

Tabla 1 - Principales aplicaciones del pez cebrá en investigaciones biomédicas

Modelos estudiados	Estadío*	Parámetros evaluados	Ref.**
Ansiedad	Larvas (5 dpf) Adultos	Tigmotaxis, actividad locomotora, Test de Luz/Oscuridad	(19,20)
Diabetes	Adultos (machos)	Peroxidación lipídica, fosfatasa alcalina, aminotransferasa alanina, aminotransferasa aspartato y niveles de glucosa, colesterol total y triglicéridos	21
Obesidad	Adultos (machos)	Peso, longitud del pez, índice de masa corporal	22
Inflamación	Larvas (3-4 dpf)	Actividad inhibitoria sobre la migración de neutrófilos y expresión génica de citoquinas, neutrófilos, complemento 3a, fosfolipasa A2, COX-2, factor de transcripción NF-kB	23
Estrés oxidativo	Larvas (3-4 dpf) Embriones (0-48 hpf) Adultos	Efecto protector frente al hidróperóxido de terbutilo, peroxidación lipídica (TBARS), actividad superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), intensidad fluorescente, expresión génica de enzimas y sustancias antioxidantes	
Inmunomodulador	Adultos	Concentración y expresión génica de biomarcadores del sistema inmune	24
Alzheimer	Adultos machos	Memoria espacial (prueba de laberinto T, condicionamiento del apetito con sesgo de color) y memoria de miedo o alarma (prueba de evasión)	25
Epilepsia	Larvas Adultos	Actividad motora	26
Parkinson	Larvas (120 hpf)	Parámetros de comportamiento (locomoción y reacción al cambio luz/oscuridad), desarrollo de vasculatura, cambios neuronales, determinación de EROs, expresión génica	27
Esclerosis múltiple Polineuropatías	Larvas transgénicas (5-7 dpf)	Locomoción: distancia recorrida, velocidad y tiempo de demora en recorrer la distancia. Técnicas inmunohistoquímicas	28
Cáncer	Embriones (6-72 hpf)	Actividad citotóxica y antiproliferativa, proliferación y migración de las células HepG2, actividad anti angiogénica (desarrollo, medición y cuantificación de vasos sanguíneos intersegmentales (ISVs)	29-30

*Las unidades de medida hpf y dpf se refieren a horas posfertilización y días posfertilización, respectivamente. ** Se refiere al número de la referencia donde se cita el estudio

Como se observa en la tabla 1, el pez cebra tiene una gran variedad de aplicaciones para el estudio de desórdenes neurológicos, diabetes mellitus, inflamación y cáncer.

El conocimiento de los patrones de comportamiento del pez cebra se ha aprovechado en la identificación de nuevos candidatos bioactivos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, ya que los análisis de comportamiento son relativamente sencillos y económicos.⁽³¹⁾

De hecho, este biomodelo se ha generalizado en el estudio de los mecanismos patológicos asociados a enfermedades como el parkinson y el alzheimer, así como en la evaluación de los mecanismos moleculares de sustancias bioactivas debido a las similitudes existentes entre el sistema nervioso de este vertebrado y el de los seres humanos.⁽³²⁾

Por otra parte, las respuestas individuales de estos peces a las manipulaciones genéticas, ambientales y farmacológicas, así como las diferencias individuales de raza y sexo, han convertido a *Danio rerio* en una promisorio herramienta traslacional para el desarrollo de la psiquiatría personalizada, una tendencia actual de la medicina moderna.⁽³³⁾

En el campo de la medicina de precisión, el pez cebra se ha propuesto como un modelo factible para los estudios en cáncer, no solo con respecto a las potencialidades que tiene para las evaluaciones preclínicas, sino también como un modelo para probar la eficacia de tratamientos antineoplásicos específicos mediante el xenotrasplante de células tumorales en larvas y adultos.⁽³⁴⁾ Esta iniciativa novedosa marca un hito en el tratamiento del cáncer. De hecho, en el período 2017-2019 fue aprobado un proyecto millonario financiado por la Unión Europea a través de los Proyectos Horizontes 2020, dedicado a la creación de una plataforma para la terapia personalizada del cáncer con el empleo de esta técnica.⁽³⁵⁾ y del que incluso, ya existen reportes en la literatura, donde la aplicación de esta plataforma ha resultado exitosa en pacientes pediátricos.⁽³⁶⁾

Es evidente que el pez cebra se ha convertido en un promisorio biomodelo para las investigaciones biomédicas, no solo para estudios preclínicos dirigidos a la búsqueda de nuevas drogas, sino también como una herramienta útil en la práctica clínica para el desarrollo de la medicina de precisión, una nueva tendencia que va en ascenso.

Aplicación del pez cebra en toxicología

En la tabla 2 se muestran algunos de los principales ejemplos de aplicación del pez cebra en estudios toxicológicos.

Tabla 2 - Principales aplicaciones del pez cebra en estudios toxicológicos.

Ensayos toxicológicos	Estadio*	Parámetros evaluados	Ref.**
Toxicidad aguda	Embriones (6 hpf)	Mortalidad	37
Teratogénesis	Larvas (120 hpf)	Coagulación del huevo, edema del saco vitelino, edema pericárdico, número de movimientos espontáneos, longitud corporal, área pericárdica, latidos del corazón, área del saco vitelino, curvatura espinal, edema pericardio, hipoplasia de la cola, edema del saco vitelino, retardo en el crecimiento, índice teratogénico	
Cardiotoxicidad	Embriones (2-3dpf)	Inflamación del corazón, edema pericárdico, ensayo de especies reactivas de oxígeno (ROS), expresión de genes (tnnc1a, cacna1ab y kcnq3)	38
Ecotoxicidad	Embriones (0-96 hpf) Larvas (72 hpf) Adultos (6-7 meses)	Índice de mortalidad, eclosión y malformaciones (edema pericárdico, escoliosis y disminución del tamaño del cuerpo), variación morfológica entre los sobrevivientes, mortalidad, área del hígado y yema, daño hepático, concentración de aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), lipoproteína de baja densidad (LDL), triglicérido (TG) y colesterol (TC), acumulación de lípidos en el hígado, expresión génica (Srebf1, Srebf2 y Fasn)	39,40,41
Embriotoxicidad	Embriones	Coagulación del embrión, pigmentación, edema del saco vitelino, cambios morfológicos (curva espinal, deformaciones en los órganos), tasa de mortalidad, tasa de eclosión	42
Neurotoxicidad	Embriones (4 hpf)	Enrollamiento, cantidad de receptores 5HT que se expresaron por técnicas inmunohistoquímicas con anticuerpos 5HT, análisis de ARN que sintetizan receptores 5HT	43
Hepatotoxicidad	Larvas (90-120 hpf) Adultos (5 meses)	Observación de muerte de células hepáticas, cambios histológicos de los hepatocitos, actividad de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y proteína fosfatasa (PP), determinación de proteínas solubles, contenido de glutatión (GSH), identificación de proteínas (Proteómica), expresión de genes	44,45

*Las unidades de medida hpf y dpf se refieren a horas posfertilización y días posfertilización, respectivamente. ** Se refiere al número de la referencia donde se cita el estudio

En el campo de la toxicología, el pez cebra se utiliza para evaluar el efecto de los tóxicos en diferentes órganos, investigar el mecanismo de acción y en evaluaciones ecotoxicológicas y medioambientales, por lo que en los últimos años se ha convertido en un modelo por excelencia para el tamizaje toxicológico de compuestos químicos, desarrollo de medicamentos y estudios de neurotoxicidad.⁽⁴⁶⁾

En el tamizaje toxicológico se emplean embriones (48-96 hpf) que se exponen a las sustancias de ensayos a diferentes concentraciones para evaluar letalidad, teratogenicidad y otros cambios fenotípicos.

Por la sencillez del ensayo y la información que puede brindar, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) del inglés Environmental Protection Agency, empleó este método para realizar un barrido toxicológico a 306 sustancias químicas, usadas como pesticidas y antimicrobianos.⁽⁴⁶⁾

La importancia del pez cebra en la toxicología ha sido reconocida por las agencias reguladoras y en la actualidad, la prueba de embriotoxicidad en pez cebra (ZFET) del inglés Zebrafish Embryo toxicity Test, se encuentra incluida en las guías de evaluación toxicológica de Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) del inglés Food and Drug Administration, el Consejo Internacional de Armonización de los requisitos técnicos para el registro de medicamentos de uso humano (ICH) del inglés International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, la EPA y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) del inglés Organization for Economic Cooperation and Development. En este sentido, probablemente una de las aplicaciones del pez cebra más estudiadas en los últimos tiempos sea la evaluación toxicológica de nanopartículas, debido a la transparencia de los embriones, a su alta sensibilidad y cambios de comportamiento de este animal frente a sustancias tóxicas.⁽⁴⁷⁾

Potencialidades del pez cebra para el Centro Nacional de Toxicología

El pez cebra se ha convertido en un modelo ampliamente utilizado en las investigaciones biomédicas y toxicológicas lo cual se corrobora por el incremento observado en las publicaciones científicas de los últimos cinco años, aunque indudablemente las

evaluaciones toxicológicas han obtenido la mayor atención por parte de la comunidad científica; a pesar de esto, en Cuba existen pocas referencias de uso en este biomodelo.

El Centro Nacional de Toxicología (CENATOX) es uno de los centros que ha empleado este modelo para la evaluación de estudios toxicológicos a diferentes productos agrícolas dentro de los que se encuentran los biofertilizantes Fertizan, Bioenraíz y Vitazyme así como los bioplaguicidas HeberNem y Glutucid.

Además, este biomodelo también fue empleado en los estudios ecotoxicológicos realizados al maíz transgénico FR-Bt1 (datos no publicados), ya que este centro también se dedica a la evaluación del impacto ambiental de productos agrícolas con fines de registro comercial.

Como ya ha sido mencionado, algunos ensayos toxicológicos en embriones de *Danio rerio* han sido reconocidos para las evaluaciones de productos químicos y farmacéuticos dentro de las guías de algunas agencias reguladoras prestigiosas como la FDA, ICH, EPA y OECD.⁽⁴⁷⁾ El hecho de ser reconocido por estas agencias reguladoras soporta la necesidad de continuar con el desarrollo de este biomodelo en el CENATOX, en especial, en las evaluaciones de biopesticidas con fines de registro, lo cual confiere un mayor alcance de los resultados a estándares internacionales.

Otras ventajas que sustentan su aplicación en esta institución son su bajo costo de mantenimiento, la facilidad de obtención de los embriones, su transparencia, el rápido desarrollo embrionario, la sencillez de las evaluaciones para tamizajes farmacológicos y toxicológicos (mayoritariamente basados en análisis microscópicos y evaluaciones en el cambio de su comportamiento y características morfológicas) y las similitudes genéticas que tiene con los seres humanos,^(16,17,18) lo cual lo convierte en un modelo ideal y económico para las investigaciones científicas en laboratorios que no disponen de grandes recursos económicos o equipamientos de alta tecnología.

La utilidad de este organismo en la comprensión de diversas enfermedades, sus aplicaciones en el tamizaje farmacológico y toxicológico y los recientes avances en las terapias modernas relacionadas con la medicina de precisión lo convierten en una herramienta útil para la formación de los estudiantes de medicina, farmacia, biología y otras carreras afines.⁽⁴⁸⁾

Por tanto, el *Danio rerio* puede ser empleado en prácticas de laboratorio para asignaturas como fisiología, farmacología, toxicología y ética de la investigación; lo que favorece la profundización y actualización de conocimientos en los estudiantes, el desarrollo de habilidades prácticas en investigaciones preclínicas y la comprensión de mecanismos farmacológicos de algunos de los medicamentos empleados en la terapéutica moderna, sobre todo en los que actúan a nivel del sistema nervioso central.

Su aplicación en el campo de los productos naturales lo convierte en un modelo de utilidad para el desarrollo del Programa Nacional de Medicina Natural y Tradicional del Ministerio de Salud Pública de Cuba⁽⁴⁹⁾ el cual forma parte de los objetivos del Partido Comunista de Cuba para el desarrollo de la política económica y social del país.⁽⁵⁰⁾ Además, su empleo cada vez más aceptado en el campo de las nanotecnologías, principalmente en la nanotoxicología, lo convierte en un nuevo potencial para el desarrollo de esta ciencia en Cuba, la cual ha tomado un mayor auge en estos tiempos y a su vez permitirá incrementar los servicios científico-técnicos que brinda la institución, cumpliendo con algunos de los estándares internacionales establecidos.

El pez cebra ofrece grandes ventajas en las investigaciones biomédicas y toxicológicas, lo cual se ejemplifica en diversos estudios reportados en la literatura científica por lo que su aplicación permitiría un mayor fortalecimiento de la institución en aras de alcanzar los estándares de algunas agencias regulatorias internacionales de reconocido prestigio. Sin embargo, se hace evidente la necesidad de establecer alianzas estratégicas con otras instituciones nacionales e internacionales que garanticen una mayor preparación de los investigadores y la generalización de este biomodelo en el país.

A partir de estos antecedentes, el artículo aporta, por primera vez, un análisis de los principales avances y futuras aplicaciones de este biomodelo en el Centro Nacional de Toxicología (CENATOX).

Referencias bibliográficas

1. Robinson NB, Krieger K, Khan FM, Huffman W, Chang M, Naik , *et al.* The current state of animal models in research: A review. *Int. J Surg.* 2019;72:9-13. DOI: [10.1016/j.ijssu.2019.10.015](https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2019.10.015)

2. Ingber DE. Is it time for reviewer 3 to request human organ chip experiments instead of animal validation studies? *Adv. Sci.* 2020;7(22):2002030. DOI: [10.1002/advs.202002030](https://doi.org/10.1002/advs.202002030)
3. Jota CV, Faustino AI, Oliveira PA. Animal models in pharmacology: A brief history awarding the novel prizes for physiology of medicine. *Pharmacol.* 2021;106:356-68. DOI: [10.1159/000516240](https://doi.org/10.1159/000516240)
4. Carvalho C, Alves D, Knight A, Vicente L. Is animal-based biomedical research being used in its original context? En: Herrman K, Jayne K. *Animal experimentation: Working towards a paradigm change.* Brill Ed., Portugal, Lisboa; 2019. DOI: [10.1163/9789004391192](https://doi.org/10.1163/9789004391192)
5. Delgado R, Felipe A, Garrido BB, Rodeiro I. Pharmacological Studies as Essential Tools for the Scientific Validation of the Traditional use of Herbal drugs: Some considerations. En: Chong P, Miranda M, Manzano P. edis. *Medicinal Plants of Ecuador. Natural Products chemistry of global plants; Ecuador; 2023.* DOI: [10.1201/9781003173991](https://doi.org/10.1201/9781003173991)
6. Rącz A, Allan B, Dwyer T, Thambithurai D, Crespel A, Killen SS. Identification of individual zebrafish (*Danio rerio*): A refined protocol for VIE Tagging Whilst Considering Animal Welfare and the Principles of the 3Rs. *Animals.* 2021;11(3):616-34. DOI: [10.3390/ani1103616](https://doi.org/10.3390/ani1103616)
7. Vargas RA. Pez cebra (*Danio rerio*) y anestesia. Un modelo animal alternativo para realizar investigación biomédica básica. *Anest. Méx.* 2017 [acceso 02/02/2022];29(supl. 1):86-96. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2448-8771201700400086&script=sci_abstracthttps://n9.cl/z1pgk
8. Lawrence C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquac.* 2007;269:1-20. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2007.04.077](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.077)
9. Espinosa MB. El pez cebra: una herramienta en educación. *Rev. Educ. Biol.* 2016 [acceso 02/02/2022];19(1):11-8. Disponible en: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/revistaadbia/article/view/22527>
10. Modarresi A, Arsad H, Lim V. Zebrafish as a successful animal model for screening toxicity of medicinal plants. *Plants* 2020;9(10):1345-79. DOI: [10.3390/plants9101345](https://doi.org/10.3390/plants9101345)
11. Brown HK, Schiavone K, Tazzyman S, Heymann D, Chico TJ. Zebrafish xenograft models of cancer and metastasis for drug discovery. *Expert. Opin. Drug Discov.* 2017;12(4):379–89. DOI: [10.1080/17460441.2017.1297416](https://doi.org/10.1080/17460441.2017.1297416)

12. Cassar S, Adatt I, Freeman L, Gamse T, Iturria I, Lawrence C, *et al.* Use of Zebrafish in drug discovery toxicology. *Chem. Res. Toxicol.* 2020;33(1):5-118. DOI: [10.1021/acs.chemrestx.b00335](https://doi.org/10.1021/acs.chemrestx.b00335)
13. Muller B, Grossniklaus U. Model organisms – A historical perspective. *J Proteom.* 2010;73(11):2054-63. DOI: [10.1016/j.jprot.2010.08.002](https://doi.org/10.1016/j.jprot.2010.08.002)
14. Meunier R. Stages in the development of a model organism as a platform for mechanistic models in developmental biology: Zebrafish, 1970-2000. *Stud. Hist. Philos Biol. Biomed. Sci.* 2012;43(2):522-31. DOI: [10.1016/j.shpsc.2011.11.013](https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2011.11.013)
15. Henken DB, Rasooly RS, Javois L, Hewitt AT. The National Institutes of Health and the growth of the zebrafish as an experimental model organism. *Zebrafish.* 2004;1(2):105-10. DOI: [10.1089/zeb.2004.1.105](https://doi.org/10.1089/zeb.2004.1.105)
16. Meyers JR. Zebrafish: development of a vertebrate model organism. *Curr. Protoc. Essent. Lab. Tech.* 2018;16(1):e19. DOI: [10.1002/cpet.19](https://doi.org/10.1002/cpet.19)
17. Patton EE, Zon LI, Langenau DM. Zebrafish disease models in drug discovery: from preclinical modelling to clinical trials. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2021;20(8):611-28. DOI: [10.1038/s41573-021-00210-8](https://doi.org/10.1038/s41573-021-00210-8)
18. Tomasiewicz HG, Heseelbach R, Carvan MJ, Goldberg B, Berg CA, Petering DH. Zebrafish as a model system for environmental health studies in the grade 9-12 classroom. *Zebrafish.* 2014;11(4):384-96. DOI: [10.1089/zeb.2013.0881](https://doi.org/10.1089/zeb.2013.0881)
19. Maphanga VB, Skalicka K, Budzynska B, Enslin M, Viljoen M. Screening selected medicinal plants for potential anxiolytic activity using an in vivo zebrafish model. *Psychopharmacol.* 2020;237(12):3641-52. DOI: [10.1007/s00213-020-05642-5](https://doi.org/10.1007/s00213-020-05642-5)
20. Mendes AC, Miyoshi E, Marques JA, Pereira RP. Anxiolytic properties of *Cymbopogon citratus* (DC.) staph extract, essential oil and its constituents in Zebrafish (*Danio rerio*). *J Ethnopharmacol.* 2020;260:113036. DOI: [10.1016/j.jep.2020.113036](https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113036)
21. Pérez RM, Muñoz A, Garcia AH, Mota JM. Evaluation of the antidiabetic potential of extracts of *Urtica dioica*, *Apium graveolens*, and *Zingiber officinale* in mice, zebrafish and pancreatic cell. *Plants.* 2021;10(7):1438-49. DOI: [10.3390/plants10071438](https://doi.org/10.3390/plants10071438)
22. Yuniarto A, Zavira A, Selifiana N, Adnyana K. Preventive effect of ethanol extract of red spinach (*Amaranthus tricolor* L.) on diet-induced obese zebrafish. *Eur. J Med. Plants.* 2020;31(20):27-32. DOI: [10.9734/EJMP/2020/v31i2030354](https://doi.org/10.9734/EJMP/2020/v31i2030354)

23. Nguyen TH, Le HD, Nguyen T, Pham H, Nguyen TM, Cornet V, et al. Anti-inflammatory and antioxidant properties of the ethanol extract of *Clerodendrum cyrtophyllum* Turczin copper sulfate-induced inflammation in Zebrafish. *Antioxid.* 2020;9(3):192-201
DOI: [10.3390/antiox9030192](https://doi.org/10.3390/antiox9030192)
24. Ahmadifar E, Mahmoud AO, Shahriari M, Sheikhzadehd N, Hossein S, Saiyad M. Modulation of immune parameters and antioxidant defense in Zebrafish (*Danio rerio*) using dietary apple cider vinegar. *Aquac.* 2019;513:734412. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2019.734412](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734412)
25. Singsai K, Ladpala N, Dangja N, Boonchuen T, Jaikhamfua N, Fakthong P. Effect of *Streblus asper* leaf extract on scopolamine-induced memory deficits in Zebrafish: The model of Alzheimer's disease. *Adv. Pharmacol. Pharm. Sci.* 2021;2021:6666726. DOI: [10.1155/2021/6666726](https://doi.org/10.1155/2021/6666726)
26. Brillatz T, Jacmin M, Ferreira E, Marcourta L, Slacanin I, Petit C, et al. Zebrafish bioassay-guided isolation of antiseizure compounds from the Cameroonian medicinal plant *Cyperus articulatus* L. *Phytomed.* 2020;70:153175. DOI: [10.1016/j.phymed.2020.153175](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153175)
27. Ren Q, Jiang X, Zhang S, Gao X, Paudel YN, Zhang P, et al. Neuroprotective effect of YIAEDAER peptide against Parkinson's disease like pathology in zebrafish. *Biomed. Pharmacother.* 2022;147:112629. DOI: [10.1016/j.biopha.2022.112629](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112629)
28. Kim S, Lee DW, Schachner M, Park HC. Small compounds mimicking the adhesion molecule L1 improve recovery in a Zebrafish demyelination model. *Sci. Rep.* 2021;11:5878. DOI: [10.1038/s41598-021-85412-1](https://doi.org/10.1038/s41598-021-85412-1)
29. Rajiv C, Roy SS, Tamreihao K, Kshetri P, Singh TS, Sanjita DH, et al. Anticarcinogenic and antioxidant action of an edible aquatic flora *Jussia earepens* L. using in vitro bioassays and in vivo zebrafish model. *Mol.* 2021;26(8):2291. DOI: [10.3390/molecules.26.082291](https://doi.org/10.3390/molecules.26.082291)
30. Zhang S, Song Z, Shi L, Zhou L, Zhang J, Cui J, et al. A dandelion polysaccharide and its selenium nanoparticles: Structure features and evaluation of anti-tumor activity in Zebrafish models. *Carbohydr. Polym.* 2021;270:118365. DOI: [10.1016/j.carbpol.2021.11836](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.11836)
31. Pitchai A, Kannan R, Freeman JL. Zebrafish as an emerging model for bioassay-guided natural product drug discovery for neurological disorders. *Med.* 2019;6(2):61-81. DOI: [10.3390/medicines6020061](https://doi.org/10.3390/medicines6020061)

32. Wang J, Cao H. Zebrafish and medaka: Important animal models for human neurodegenerative diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(19):10766. DOI: [10.3390/ijms221910766](https://doi.org/10.3390/ijms221910766)
33. Vogin AD, Yakovlev OA, Demin KA, de Abreu MS, Alekseeva PA, Friend AJ, et al. Zebrafish models for personalized psychiatry: insights from individual, strain and sex differences, and modeling gene x environments interactions. *J Neurosci. Res.* 2018;97(4):402-13. DOI: [10.1002/jnr.24337](https://doi.org/10.1002/jnr.24337)
34. Fazio M, Ablain J, Chuan Y, Langenau DM, Zon LI. Zebrafish patient avatars in cancer biology and precision cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer* 2020;20(5):263-73. DOI: [10.1038/s41568-020-0252-3](https://doi.org/10.1038/s41568-020-0252-3)
35. European Union. Zebrafish avatar as a real-time in vivo platform for personalized cancer therapeutics "ZEBRACONFISH". *Horizontes* 2020. 2017 [acceso 02/02/2022]. Disponible en: <https://cordis.europa.eu/project/id/777373/es>
36. Gatzweiler C, Ridinger J, Herter S, Gerloff XE, El Harouni D, Berker Y, et al. Functional therapeutic target validation using pediatric zebrafish xenograft models. *Cancers.* 2022;14(3):849-873. DOI: [10.3390/cancers14030849](https://doi.org/10.3390/cancers14030849)
37. Nguyen TH, Nguyen PD, Quetin J, Muller ML, Huong DT, Pham HT, Kestemont P. Developmental toxicity of *Clerodendrum cyrtophyllum* Turcz ethanol extract in zebrafish embryo. *J Ethnopharmacol.* 2021;267:113538. DOI: [10.1016/j.jep.2020.113538](https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113538)
38. Zheng CD, Zhong SX, Yan FH, Yi P, Bing BC, Chun QL, et al. Cardiotoxicity induced by *Cochinchina Momordica* seed extract in zebrafish. *J Appl. Toxicol.* 2021;41(8):1222-31. DOI: [10.1002/jat.4108](https://doi.org/10.1002/jat.4108)
39. Abramenko NB, Demidova TB, Abkhalimov EV, Ershov BG, Krysanov EY, Kustov LM. Ecotoxicity of different-shaped silver nanoparticles: Case of zebrafish embryos. *J Hazard Mater* 2018;347:89-94. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2017.12.060](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.12.060)
40. Yu Q, Huo J, Zhag Y, Liu K, Cai Y, Xiang T, et al. Tamoxifen-induced hepatotoxicity via lipid accumulation and inflammation in Zebrafish. *Chemosphere* 2020;239:124705. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2019.124705](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124705)

41. Malhotra N, Chen JR, Sarasamma S, Audira G, Siregar P, Liang ST, et al. Ecotoxicity assessment of Fe₃O₄ magnetic nanoparticle exposure in adult zebrafish at an environmental pertinent concentration by behavioral and biochemical testing. *Nanomater.* 2019;9(6):873-82. DOI:[10.3390/nano9060873](https://doi.org/10.3390/nano9060873)
42. Perumal S, Gopal MV, Subramanian D. Developmental toxicity, antioxidant and marker enzyme assessment of swertiamarin in Zebrafish. *J Biochem. Mol. Toxicol.* 2021;35(9):e22843. DOI: [10.1002/jbt.22843](https://doi.org/10.1002/jbt.22843)
43. Chen H, Wang F, Ni X, Rigui Y, Bai Y, Xu L, et al. Aconitine disrupts serotonin neurotransmission via 5-hydroxytryptamine receptor in zebrafish embryo. *J Appl. Toxicol.* 2021;41(3):483-92. DOI: [10.1002/jat.4059](https://doi.org/10.1002/jat.4059)
44. Komakech R, Shim S, Yim NH, Song JH, Yang SK, Choi G, et al. In Vitro Antiosteoporosis Activity and Hepatotoxicity Evaluation in Zebrafish Larvae of Bark Extracts of *Prunus jamasakura* Medicinal Plant. *Evid-Based Complement. Altern. Med.* 2020:8582318. DOI: [10.1155/2020/8582318](https://doi.org/10.1155/2020/8582318)
45. Du B, Liu G, Ke M, Zhang Z, Zheng M, Lu T, Sun L, Qian H. Proteomic analysis of the hepatotoxicity of *Microcystis aeruginosa* in adult zebrafish (*Danio rerio*) and its potential mechanisms. *Environ. Pollut.* 2019;254:113019. DOI: [10.1016/j.envpol.2019.113019](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113019)
46. Horzmann KA, Freeman J. Making waves: New developments in toxicology with the zebrafish. *Toxicol. Sci.* 2018;163(1):5-12. DOI: [10.1093/toxsci/kfy044](https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy044)
47. Brundo MV, Salvaggio A. Zebrafish or *Danio rerio*: A new model in nanotoxicology study. In: Bozkurt Y. Recent advances in zebrafish researches. Interchopen: London, 2018. [acceso 02/02/2022] Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/59807>
48. Badyal DK, Desai C. Animal use in pharmacology education and research: the changing scenario. *Indian J Pharmacol.* 2014;46(3):257-65. DOI: [10.4103/0253-7613.132153](https://doi.org/10.4103/0253-7613.132153)
49. Martinez I. Programa Nacional de Medicina Natural y Tradicional. *Rev. Cuba Plant. Med.* 2015 [acceso: 02/02/2022];20(4):373-374. Disponible en: <https://n9.cl/rm5es>
50. PCC. Lineamientos para el desarrollo de la política económica y social de Cuba, 2021 [acceso 02/02/2022]. Disponible en: <https://n9.cl/m98ux>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Ana Cristina Noa Rodríguez.

Análisis formal: Ana Cristina Noa Rodríguez, Yordanka Domínguez Linares, Odette Beiro Castro.

Investigación: Ana Cristina Noa Rodríguez, Yordanka Domínguez Linares, Odette Beiro Castro.

Metodología: Ana Cristina Noa Rodríguez, Yordanka Domínguez Linares, *Metodología:* Odette Beiro Castro.

Supervisión: Alejandro Felipe González, Yamilet Irene Gutiérrez Gaitén.

Redacción - borrador original: Ana Cristina Noa Rodríguez, Alejandro Felipe González.

Redacción - revisión y edición: Ana Cristina Noa Rodríguez, Alejandro Felipe González, Yamilet Irene Gutiérrez Gaitén.