

El pez cebra (*Danio rerio*) como modelo para el estudio del metabolismo y la obesidad

Román Espinosa Cervantes,¹ Ana Laura Rodríguez Pérez²
y José de Jesús Galeana Flores²

Resumen. En los últimos años, el pez cebra (PC) ha tenido una gran importancia en la investigación biomédica para modelar enfermedades metabólicas crónicas y sus complicaciones que afectan al humano (cardiovasculares, hígado graso, obesidad y diabetes tipo 2). Además, este pequeño vertebrado es un valioso modelo para estudiar las rutas metabólicas, la patogénesis de los diferentes trastornos relacionados con el metabolismo en humanos (por sus similitudes fisiológicas, morfológicas, genéticas e histológicas), y en la identificación de nuevos tratamientos terapéuticos. En esta revisión describimos la utilidad del PC en el estudio de los mecanismos, mediante los cuales el metabolismo regula la obesidad, la enfermedad del hígado graso y la diabetes en los humanos. Finalmente, con la disponibilidad de los nuevos enfoques de la microscopía, la genómica, la transcriptómica y la metabolómica, podemos mencionar que la investigación metabólica en los peces cebra proporcionará conocimientos fundamentales que contestarán las preguntas sobre los problemas metabólicos que padece la humanidad.

Palabras clave: Pez cebra, metabolismo, diabetes, obesidad, hígado graso.

Abstract. In recent years, zebrafish has been of great importance in biomedical research to model chronic metabolic diseases and their complications that affect humans (cardiovascular, fatty liver, obesity and type 2 diabetes). In addition, this small vertebrate is a valuable model to study the metabolic pathways, the pathogenesis of different disorders related to metabolism in humans (due to their physiological, morphological, genetic and histological similarities) and in the iden-

¹ Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México, e-mail: espinosa@correo.xoc.uam.mx

² Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México.

tification of new therapeutic treatments. In this review we describe the usefulness of zebrafish in the study of the mechanisms by which the metabolism regulates obesity, fatty liver disease and diabetes in humans. Finally, with the availability of the new approaches of microscopy, genomics, transcriptomics and metabolomics, we can mention that the metabolic research in zebrafish will provide fundamental knowledge that will answer the questions about the metabolic problems that humanity suffers.

Keywords: Zebrafish, metabolism, diabetes, obesity, fatty liver.

INTRODUCCIÓN

A través de la historia, el uso de animales en la investigación biomédica ha tenido un papel central en el estudio de diversas enfermedades del ser humano, ayudando a describir sus causas, diagnósticos y tratamientos (Barré-Sinoussi y Montagutelli, 2015). Particularmente los mamíferos (ratón, rata, conejo, oveja, cabra, vaca, cerdo, primate, perro y gato) han contribuido a investigar y dilucidar una serie de mecanismos fisiológicos con la finalidad de desarrollar y probar nuevas terapias antes de ser aplicadas en el ser humano (Andersen y Winter, 2019). Todas las especies antes mencionadas tienen un alto grado de similitud anatómica, fisiológica y genética de órganos (hígado, páncreas y riñón) con los humanos (Zang *et al.*, 2018).

Actualmente, la investigación biomédica ha hecho uso de otros organismos como insectos del género *Drosophila*, nematodos de la especie *Caenorhabditis elegans*, ranas del género *Xenopus* y peces cebrá de la especie *Danio rerio* (Toni *et al.*, 2018; Lin *et al.*, 2016). En los últimos años los peces tropicales de agua dulce han llamado la atención como modelo para la investigación biomédica por su alta prolificidad y bajo mantenimiento (Lawrence, 2007; Yang y Tiersch, 2008; Rajla *et al.*, 2015).

Tomando en cuenta todas estas características, el PC actualmente es considerado el modelo ideal para estudiar el metabolismo de la obesidad y la diabetes en humanos (Vargas-Vargas, R.A. 2017), debido a que estos peces poseen los mismos órganos para el control metabólico, así como los circuitos del apetito que están presentes en el hipotálamo, hasta el páncreas y los tejidos sensibles a la insulina (hígado, músculo y tejido adiposo) (Giacomotto y Segalat, 2010; Sonali *et al.*, 2015). Por ello, el objetivo de la presente revisión es presentar algunas de las muchas ventajas que ofrece el PC como modelo metabólico experimental en la investigación biomédica de humanos y animales.

Revisión de la literatura

La búsqueda de literatura científica se realizó en las bases de datos Medline, ScienceDirect, el buscador Google académico y la biblioteca digital de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco (BidiUAM). Se seleccionó la información lo más recientemente posible, y de preferencia con factor de impacto. Las palabras clave utilizadas en la búsqueda fueron: peces cebra, modelos animales, obesidad, diabetes, trastornos metabólicos e hígado graso. Cada uno de los conceptos se combinó con operadores booleanos como “and”, “or” o “not” para la recuperación de la información. La revisión de literatura está basada en artículos de revisión y artículos originales relacionados con los temas.

Porque reemplazar el modelo animal

Algunos factores que favorecen el remplazo del modelo animal como el ratón, es que se estresan fácilmente, por lo que algunos comportamientos humanos no pueden ser estudiados bajo estas condiciones, otra dificultad es que con este tipo de mamíferos se requiere de espacios grandes que incrementan el costo y el manejo. Por ejemplo, para la obtención de embriones de ratón es necesario sacrificar a la hembra o, en estudios farmacológicos, debe aplicarse individualmente a cada animal o por inhalación y que, por tanto, requiere que el medio ambiente debe ser sellado, mientras que con los peces el tratamiento en el agua llega a todos los individuos (Simonetti *et al.*, 2015).

El concepto de sustitución de animales fue discutido por primera vez en 1957, por Charles Hume y William Russell en la Federación de Universidades para el cuidado de los animales (UFAW por sus siglas en inglés). Posteriormente, Russell y Burch, en 1959, sugirieron algunas formas de hacer más experimentos con animales desde un punto de vista más humano, a lo que llamaron las 3Rs: a) Este enfoque motiva el uso de un número mínimo de animales, es decir, “reducción” en el número total de animales utilizados en un experimento, b) El uso de animales deben ser planificados y “refinados” cuidadosamente, de tal manera que el dolor y la angustia causados durante el experimento sea mínimo y, por último, c) si es posible, los animales superiores deberían ser “reemplazados” con metodologías alternativas y organismos inferiores (Sonali *et al.*, 2015).

La especie que cumple con estas 3Rs es el PC, nativo del sudeste del Himalaya. Las razones de su uso es que los embriones del PC se desarrollan fuera del cuerpo de la madre y son transparentes, por lo que resultan ser un organismo ideal para estudiar el desarrollo embrionario de vertebrados sin necesidad de procedimientos invasivos

(Nowik *et al.*, 2015; Schlegel y Gut, 2015). Entre otros factores benéficos (Tabla 1): el PC es relativamente barato de albergar, necesitan menos espacio, menos tiempo de dedicación del personal, y hay menos regulaciones que en el caso de roedores; por ejemplo, en el enriquecimiento del hábitat (Dai *et al.*, 2014; Lantz-Mcpeak, S. *et al.*, 2014; Simonetti *et al.*, 2015).

Tabla 1. Motivos por los cuales hay que reemplazar el modelo animal

a) Los embriones del pez cebra son transparentes, es decir, que se pueden observar sus órganos y tienen características similares a los humanos.
b) Produce en promedio 250 ovocitos fertilizados semanalmente y permite su estudio sin necesidad de procedimientos invasivos.
c) Completan la embriogénesis en 72 horas.
d) Comparte un gran porcentaje de sus genes con algunas enfermedades de humanos.
e) Su vida media es de cinco años y es posible estudiar envejecimiento, metabolismo embrionario, enfermedades metabólicas (obesidad, hígado graso, diabetes). Y algunas otras enfermedades: neurodegenerativas, cáncer, toxicológicos, regeneración de tejidos y aspectos reproductivos.
f) También es utilizado en estudios sobre vigilancia ecotoxicológica.

Alrededor de 75% de los genes de enfermedades humanas conocidos tienen una coincidencia con el genoma del PC, por lo tanto, este modelo puede utilizarse para estudiar una amplia gama de enfermedades humanas como los problemas metabólicos, obesidad, hígado graso y diabetes (Robles *et al.*, 2009; Sarasamma *et al.*, 2017).

Metabolismo embrionario del pez cebra

Las enfermedades asociadas a disturbios metabólicos (aterosclerosis, obesidad, diabetes y esteatosis hepática) se han incrementado rápidamente. En los últimos años, se ha estudiado el desequilibrio de lípidos como factor contribuyente de estas enfermedades en cultivos celulares, sin embargo, la extrapolación de estos resultados al conjunto del organismo representa un reto, por lo que existe una gran necesidad tener un modelo que permita un análisis detallado del metabolismo de los lípidos en un organismo intacto (Hölttä-Vuori, M. *et al.*, 2010; Intine *et al.*, 2013).

Durante el desarrollo embrionario existe una gran demanda de lípidos, aminoácidos y nucleótidos para el desarrollo de tejidos que adoptan un metabolismo anabólico que contribuye a la producción de biomasa (Salmi *et al.*, 2019). Los compuestos lipídicos tienen importantes funciones en la homeostasis energética, celular, estructural y en la señalización celular, sin embargo, poco se sabe sobre la influencia de la composición lipídica en la embriogénesis y el desarrollo de los vertebrados (Fraher *et al.*, 2016). Actualmente el PC es el único modelo de vertebrados donde en sólo 6 días se puede estudiar el metabolismo de los lípidos en órganos metabólicos vivos, como el hígado y el intestino que, junto con las nuevas técnicas de imagenología, permiten la visualización directa de fenómenos complejos a nivel de todo el organismo (Ho *et al.*, 2004; Hölttä-Vuori, M. *et al.*, 2010; Zeituni y Farber, 2016.). Además, la regionalización funcional del intestino también parece estar conservada entre los vertebrados y el PC, con respecto a la expresión de los factores de transcripción en células epiteliales a lo largo del intestino (Quinlivan y Farber, 2017).

Se han realizado diversos estudios en el PC que describen la composición y distribución de los lípidos en tejidos, el metabolismo de las lipoproteínas, la absorción intestinal de lípidos, los lípidos del saco vitelino y su movilización, así como los lípidos en el sistema nervioso. Estos estudios en el PC son herramientas importantes para comprender aspectos de la biología de los lípidos con implicaciones clínicas importantes para otras especies animales (Ho *et al.*, 2004).

Dentro de los lípidos reportados en el PC, está la expresión de 11 apolipoproteínas (de las familias apoB, apoA-IV, apoE y apoA-I) que tienen funciones similares en mamíferos y animales transgénicos y, que a su vez, se pueden utilizar para examinar el transporte de lípidos desde el saco vitelino al embrión y el tráfico dietético en los alevines (Quinlivan y Farber, 2017).

Uso del pez cebra en el metabolismo de la obesidad

La obesidad es una enfermedad compleja que resulta de una interacción entre factores genéticos y ambientales (Patton y Zon, 2001), como consecuencia de un desequilibrio prolongado entre las calorías ingeridas y el gasto de energía. La regulación de la ingesta de alimento, el gasto de energía, el control metabólico y la regulación de la homeostasis energética de todo el cuerpo implican una interacción compleja entre múltiples órganos como el cerebro, intestino, músculo esquelético, tejido adiposo y las señales endocrinas (Minchin y Rawls, 2017b), para equilibrar cuidadosamente la ingesta, la utilización y el almacenamiento de la energía (Periasamy *et al.*, 2017). Los estudios *in vitro* de la obesidad no pueden recrear la complejidad que existe, por lo que se requieren estudios con animales para estudiar el metabolismo, tal como se desarrolla en un contexto multicelular. El PC es el modelo animal ideal, ya que conserva funcionalmente el metabolismo de los lípidos, la biología adiposa, la estructura del páncreas y la homeostasis de la glucosa, de forma muy similar a los seres humanos (Seth *et al.*, 2013).

En los últimos años, se ha trabajado con modelos animales, genéticamente modificados, que reflejen la patología de la obesidad humana para comprender las bases fisiológicas y genéticas, así como las enfermedades asociadas (hígado graso y diabetes), con el objetivo de desarrollar tratamientos farmacéuticos efectivos contra la obesidad. Además, mediante manipulación genética de las vías que controlan el peso corporal en los mamíferos, se ha visto que también causan obesidad en el PC. Los modelos transgénicos de obesidad del PC se han generado utilizando otros modelos animales como el ratón (Zang *et al.*, 2018).

El primer modelo de PC con obesidad, inducida por la dieta (OID), lo reportaron Oka *et al.* (2010), en ese estudio los peces adultos (3,5 meses de edad) fueron alimentados diariamente con 60 mg o 5 mg de *Artemia* durante 8 semanas (150 calorías vs. 20 calorías) (Zang *et al.*, 2018).

La mayor parte de los estudios del metabolismo de lípidos han sido realizados en larvas de PC, que ingieren alimento hasta los 5-6 días pos-fertilización (dpf); durante ese tiempo absorben las vitaminas que se encuentran solubles en la grasa, el triacilglicerol (TAG) y el colesterol almacenado en el saco vitelino. En el estadio de larva (5 dpf), los lípidos están presentes en muchos tejidos, sin embargo, se ha reportado una menor acumulación en los hepatocitos. Los primeros signos de adipogénesis son visibles a los 8 dpf en la cavidad visceral cerca del páncreas, mientras que a los 12 dpf, los adipocitos están presentes en el páncreas. Con la ayuda de tinciones como el Rojo Nilo, los adipocitos son claramente visibles a los 15 dpf en la región visceral (intrabdominal y alrededor de los órganos internos), una localización asociada en humanos con factores de riesgo para desarrollar diabetes tipo 2 (Faillaci *et al.*, 2018).

Métodos para cuantificar la adiposidad en el pez cebra

En humanos las medidas cuantitativas de adiposidad para evaluar el grado de trastornos metabólicos son: el índice de masa corporal (IMC) y la tomografía computarizada cuantitativa (TC); sin embargo, en los PC aún no se ha desarrollado un sistema de clasificación estandarizado. La distribución regional del tejido adiposo se puede visualizar en el PC *in vivo* usando colorantes lipófilos fluorescentes (FLD por sus siglas en inglés) (Minchin y Rawls, 2017a).

Actualmente, existen métodos de tinción para visualizar la acumulación y deposición de lípidos en embriones y larvas de PC como: el rojo Nilo, el rojo aceite O (para lípidos y triglicéridos neutros) y el negro B de Sudán, que se utilizan para teñir lípidos que están presentes dentro de los neutrófilos. No obstante, el rojo Nilo no es capaz de teñir los lípidos neutros y los triglicéridos durante la embriogénesis del PC (Schlegel y Stainier, 2006). En contraste, se ha demostrado que el aceite Red-O (ORO por sus siglas en inglés) es un método confiable para identificar la presencia de estos lípidos neutros y triglicéridos durante la embriogénesis del PC. A pesar de todo esto, la tinción con ORO en el PC es sólo una medida cualitativa, en la cual la deposición de lípidos sólo se evalúa visualmente. De ahí, la limitación en el uso de la tinción ORO, por tanto, hasta la fecha no existe la confiabilidad para cuantificar la tinción ORO (Minchin, y Rawls, 2017a). Además, existe una variedad de análogos y marcadores de lípidos fluorescentes, incluidos los análogos de ácidos grasos BODIPY, análogos de BODIPY-colesterol e informes de fluorescencia como PED6 para rastrear el metabolismo y la distribución de los lípidos exógenos en el PC vivo (Anderson *et al.*, 2011).

Otro punto favorable para la utilización del PC, es su tamaño, que es propicio para imágenes de cuerpo entero mediante microtomografía computarizada (micro-TC 3D), permitiendo la medición del volumen total de adipocitos en el tejido y los diferentes depósitos de grasa. Recientemente, Landgraf *et al.* (2017) comparó la metodología para cuantificar la grasa corporal de PC, utilizando imágenes de Resonancia Magnética (MRI). En general, estos métodos proporcionan mediciones precisas de la adiposidad del PC y el monitoreo longitudinal esencial para el diagnóstico de los trastornos metabólicos (Zang *et al.*, 2018; Minchin, y Rawls, 2017a). Hoy día, con la disponibilidad de la genómica, transcriptómica y metabolómica, es posible lograr que los embriones de PC sean un modelo adecuado en los estudios de las enfermedades metabólicas y de la cuantificación de la adiposidad (Hachicho *et al.*, 2015).

Trastornos metabólicos

El *Danio rerio* también es usado para estudiar enfermedades metabólicas como el hígado graso, en humanos y en vacas lecheras. El PC posee los órganos necesarios para su control metabólico (hipotálamo, páncreas y tejidos sensibles a la insulina) (Seth *et al.*, 2013). La enfermedad de hígado graso se desarrolla cuando las concentraciones en sangre de ácidos grasos no esterificados (NEFA por sus siglas en inglés) se incrementan, y la absorción hepática de NEFA supera la capacidad del hígado para sintetizar y secretar lipoproteínas. En el hígado, los NEFA pueden ser oxidados o esterificados, produciendo lo que se denominan como triglicéridos, que pueden ser exportados o almacenados (Nowik *et al.*, 2015). Por esto, la sobreproducción de ácidos grasos de los tejidos que fluyen al hígado, en combinación con los NEFA, son la causa del exceso de triglicéridos, provocando una baja en los niveles de glucosa e insulina en sangre. Los resultados del bloqueo de las vías metabólicas en la quema de grasa causa la enfermedad del hígado graso y la producción de cuerpos cetónicos (Liu *et al.*, 2010).

Los estudios de las vías metabólicas en el PC comprenden la formación en el hígado del primordio hepático y la diferenciación de hepatocitos y colangiocitos que puede ser observada a las 48 horas post fertilización (hpf) (Chu y Sadler, 2009). Además, el estudio de algunas proteínas como la de desacoplamiento 2, la fosfoenolpiruvato carboxicinas (pck1) y la carnitina palmitoiltransferasa 1A (detectables por PCR) son las responsables de la activación del metabolismo hepático, entre los días 4-6 post fertilización, una vez que el pez agota la energía del saco vitelino y tiene alimentación independiente (Gut *et al.*, 2013).

Así mismo, se han realizado diversos estudios genéticos en el PC para identificar mutantes que desarrollan hepatomegalia, un signo común de muchas patologías hepáticas (Matthews *et al.*, 2009). Sadler *et al.* (2005) propone diferentes mutantes como el gen *vps18* para los defectos hepatobiliares observados en el síndrome Artrogriposis-disfunción-renal colestasis (ARC por sus siglas en inglés), el gen *nf2* para quistes de colédoco y el gen *Fgr* para enfermedad del hígado graso. Los peces mutantes sufren de degeneración y esteatosis hepáticas, por lo que estos mutantes de PC podrían ser un modelo ideal para estudiar la enfermedad del hígado graso y el origen y la progresión de la obesidad con el objetivo de modular las vías implicadas y sus nuevas opciones terapéuticas en humanos (Nowik *et al.*, 2015; Anderson *et al.*, 2011).

Por otra parte, la similitud entre la anatomía celular de los adipocitos del PC, el tejido adiposo de los mamíferos y la presencia de todos los órganos son la clave en la regulación de la homeostasis energética y el metabolismo en los mamíferos, incluyendo

órganos digestivos, tejido adiposo y músculo esquelético que son herramientas ideales para estudiar la adipogénesis, la obesidad y las enfermedades metabólicas en esta especie animal (Faillaci *et al.*, 2018; Zang *et al.*, 2018).

Diabetes

El uso de modelos animales en el metabolismo anormal de la glucosa es esencial para ofrecer nuevos conocimientos en la diabetes tipo 2. En el desarrollo de esos modelos animales se han utilizado: a) la deriva génica planificada o espontánea; b) inducción dietética/nutricional; c) inducción química; manipulación quirúrgica; d) manipulación genética, y e) knock-out. Sin embargo, casi todos los modelos disponibles son en roedores que requieren mucho trabajo y su mantenimiento es costoso (Zang *et al.*, 2017).

Uno de los principales parámetros de diagnóstico bioquímico que se presenta en la diabetes es el incremento crónico de azúcar en sangre en las dos formas de la enfermedad: la diabetes tipo 1 (dependiente de la insulina), causada por la destrucción autoinmune de las células β pancreáticas productoras de insulina, y la diabetes tipo 2 (o no dependiente de la insulina), caracterizada por la insensibilidad a la insulina (Harris y Zimmet, 1997; Marques *et al.*, 2014). Con el deseo de mejorar, comprender y participar en la cura de tales enfermedades, se ha realizado una gran cantidad de investigaciones biomédicas sobre el páncreas, usando para ello una amplia variedad de modelos animales. Además, los mecanismos de desarrollo que constituyen a este complejo órgano presentan un problema intrínsecamente fascinante para estudiar. Además, de que los mecanismos moleculares que mantienen la homeostasis de la glucosa no están completamente definidos (Maddison y Chen, 2017).

Los primeros estudios en el PC revelaron que la inducción de la obesidad es capaz de promover la hipertrigliceridemia y la hiperglucemia como vías patológicas similares al humano (Capiotti *et al.*, 2014). La inducción de la diabetes mellitus, tipo I y 2, en embriones y peces cebra adultos se hizo administrando medicamentos diabetogénicos (estreptozotocina), o mediante una hiperglicemia aguda durante largos periodos de tiempo (Kinkel y Prince, 2009; Shin *et al.*, 2012). Los peces alcanzaron la hiperglucemia en un periodo de dos meses (con 4% de glucosa = a 200 mmol / L) (Heckler y Kroll, 2002).

Posteriormente, los estudios han propuesto que el PC es el modelo animal que comparte su organización básica y su tipo celular con el páncreas de los mamíferos. Además de conservar las vías de desarrollo que conducen al establecimiento de los

islotes pancreáticos de Langherhans en ambas especies. De tal manera, que el PC proporciona una herramienta poderosa para probar los mecanismos que controlan el establecimiento de los tipos de células endocrinas pancreáticas de las células progenitoras embrionarias tempranas, así como la regeneración de las células endocrinas después de algún daño (Prince *et al.*, 2017).

El estudio del desarrollo del páncreas en el PC es vital en la biología de las células madre y para el establecimiento de protocolos (Activina, Ácido retinoico y Factor de crecimiento de fibroblastos) para inducir las células madre embrionarias indiferenciadas a tipos celulares diferenciados (Kinkel y Prince, 2009). Este conocimiento es, a su vez, aplicable a protocolos para generar fuentes renovables de células de islotes pancreáticos en humanos, que son críticos para la regulación de los niveles de azúcar en la sangre (Prince *et al.*, 2017).

Papel de la microbiota intestinal en el control de la obesidad

La microbiota intestinal tiene funciones metabólicas como la de proteger al hospedero de microorganismos externos (flora normal) y el balance energético. Se ha demostrado que ciertos grupos de bacterias inducen la deposición y absorción de ácidos grasos en el epitelio intestinal, por ello es que algunas bacterias son usadas como probióticos, por su efecto benéfico en la regulación de la expresión de genes relacionados con el metabolismo de la glucosa y los lípidos que pueden atenuar la obesidad (Navarro-Barron *et al.*, 2019).

En mamíferos, los estudios relacionados con la microbiota intestinal están ampliamente desarrollados, mientras que en los peces apenas están iniciando. Semova *et al.* (2012) reportaron por primera vez la alteración que induce la composición de la dieta en la microbiota intestinal sobre la absorción de la grasa en los PC. Posteriormente, Falcinelli *et al.* (2015) demostraron el impacto nutricional del probiótico *Lactobacillus rhamnosus*, con alto potencial para modular la composición de la microbiota intestinal, en el PC y para atenuar los trastornos metabólicos y los fenotipos obesos (Okazaki *et al.*, 2018).

La alteración de la microbiota intestinal, además de ser afectada por otros agentes causales, recientemente se ha relacionado con la progresión del daño hepático. Los cambios en la flora bacteriana intestinal también incluyen la sobreproducción y liberación de endotoxinas bacterianas (lipopolisacáridos, LPS). La variación en el número y el tipo de bacteria en la microbiota intestinal puede afectar la permeabilidad intestinal y los niveles plasmáticos de los LPS (Faillaci *et al.*, 2018).

Otro estudio establece el efecto de la obesidad inducida por la sobrealimentación en la diversidad específica de la comunidad bacteriana intestinal, demostrando que esta diversidad intestinal es reducida significativamente, cuando se aumenta la grasa dietética entre un 5-15%. Además, se ha demostrado que la diversidad bacteriana se reduce en organismos que sufren obesidad y con trastornos relacionados con el sistema digestivo (Navarro-Barron *et al.*, 2019).

En los PC adultos se han identificado cambios en la diversidad bacteriana intestinal de algunos filos como las *Proteobacterias*, *Firmicutes* y *Tenericutes*. Otros estudios también reportan a las *Proteobacterias* como un filo predominante en el intestino de PC en etapa embrionaria, juveniles y adulto. Además, se ha reportado que cuando los machos son sobrealimentados existe una alta prevalencia de *Proteobacterias* que se asocia a una posible señal de un desequilibrio de la microbiota intestinal (disbiosis), provocando enfermedad (Shin *et al.*, 2015). Sin embargo, otros autores sugieren que el género no tiene influencia sobre la microbiota intestinal en los peces (Liu *et al.*, 2016). Los incrementos de *Proteobacterias* han sido reportados en mamíferos con trastornos metabólicos, genéticos, obesidad inducida por la dieta, diabetes mellitus tipo 2, inflamación intestinal y cáncer colorectal (Shin *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

El PC es el modelo animal ideal para la investigación biomédica del metabolismo de las enfermedades que afectan al humano. Algunas de las principales razones son: que produce embriones transparentes, se desarrollan rápido y sus órganos tienen similitud a los humanos para el control metabólico, la obesidad y la diabetes. Estas propiedades han sido parte esencial en las determinaciones genéticas, químicas, la microscopía, la transcriptómica y metabolómica para identificar pequeñas moléculas que regulan el apetito, el metabolismo de los lípidos, la glucosa (diabetes), así como en la disfunción metabólica y la interacción entre la microbiota intestinal y el metabolismo. Es necesario, por todo ello, desarrollar más investigaciones con la finalidad de desarrollar e identificar nuevos tratamientos contra los trastornos metabólicos que padece la humanidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Andersen, L. y M. Winter, 2019, "Animal models in biological and biomedical research-experimental and ethical concerns", en *An Acad Bras Cienc*, 19; 91(suppl 1):e20170238.
- Anderson, L. *et al.*, 2011, "Zebrafish lipid metabolism: from mediating early patterning to the metabolism of dietary fat and cholesterol", en *Methods in cell biology*, 101:111-41.
- Capiotti, M. *et al.*, 2014, "Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model", en *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 171:58-65.
- Chu, J. y C. Sadler, 2009, "New school in liver development: lessons from zebrafish" en *Hepatology*, 50(5):1656-63.
- Dai, Y. *et al.*, 2014, "Zebrafish as a model system to study toxicology", en *Environ Toxicol Chem*, 33:11-17.
- Faillaci, F. *et al.*, 2018, "Obese zebrafish: A small fish for a major human health condition", en *Anim Models Exp Med*, 1:255-265.
- Falcinelli, S. *et al.*, 2015, "Lactobacillus rhamnosus lowers zebrafish lipid content by changing gut microbiota and host transcription of genes involved in lipid metabolism", en *Sci Rep*, 5, 9336:1-15.
- Fraher, D. *et al.*, 2016 "Zebrafish Embryonic Lipidomic Analysis Reveals that the Yolk Cell Is Metabolically Active in Processing Lipid", en *Cell Rep*, 16;14(6):1317-1329.
- Giacomotto, J. y L. Segalat, 2010, "High-throughput screening and small animal models, where are we?", en *Br. J. Pharmacol*, 160:204-216.
- Gut, P. *et al.*, 2013, "Whole-organism screening for gluconeogenesis identifies activators of fasting metabolism", en *Nat Chem Biol*, 9(2):97-104.
- Hachicho, N. *et al.*, 2015, "Body Mass Parameters, Lipid Profiles and Protein Contents of Zebrafish Embryos and Effects of 2,4-Dinitrophenol Exposure", en *PloS one*, 10(8):e0134755.
- Harris, M. y P. Zimmet, 1997, "Classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance", en Alberti, K. *et al.* (Eds.), *International Textbook of Diabetes Mellitus* (Second edition), Chichester: John Wiley and Sons Ltd., 9-23 pp.
- Heckler, K. y J. Kroll, 2002, "Zebrafish as a Model for the Study of Microvascular Complications of Diabetes and Their Mechanisms", en *Int. J. Mol. Sci*, 18:2-9.
- Ho, Y. *et al.*, 2004, "Lipid metabolism in zebrafish", en *Methods Cell Biol*, 76: 87-108.
- Hölttä, M. *et al.*, 2010, "Zebrafish: gaining popularity in lipid research", en *Biochem J*, 429(2):235-42.
- Intine, V. *et al.*, 2013, "A zebrafish model of diabetes mellitus and metabolic memory", en *Journal of visualized experiments: JoVE*, (72), e50232.

- Kinkel, D. y E. Prince, 2009, "On the diabetic menu: zebrafish as a model for pancreas development and function", en *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 31(2): 139-152.
- Landgraf, K. *et al.*, 2017, "Short-term overfeeding of zebrafish with normal or high-fat diet as a model for the development of metabolically healthy versus unhealthy obesity", en *BMC Physiol*, 17(4): 1-10.
- Lantz, S. *et al.*, 2014, "Developmental toxicity assay using high content screening of zebrafish embryos", en *Journal of Applied Toxicology*, 35(3): 261-272.
- Lawrence, C., 2007, "The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review", en *Aquacultur*, 269: 1-20.
- Lin, Y. *et al.*, 2016, "Zebrafish and Medaka: new model organisms for modern biomedical research", en *Journal of Biomedical Science*, 23(19): 1-11.
- Liu, Y. *et al.*, 2016, "Influence of Endogenous and Exogenous Estrogenic Endocrine on Intestinal Microbiota in Zebrafish", en *PLoS One*, 4; 11(10): e0163895.
- Liu, Q., 2010, "The role of hepatic fat accumulation in pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)", en *Lipids in health and disease*, 9: (42):1-9.
- Maddison, A. y W. Chen, 2017, "Modeling Pancreatic Endocrine Cell Adaptation and Diabetes in the Zebrafish", en *Frontiers in Endocrinology*, 8(9): 1-11.
- Marques, K. *et al.*, 2014, "Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model", en *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 171: 58-65.
- Matthews, P. *et al.*, 2009, "TNF {alpha}-dependent hepatic steatosis and liver degeneration caused by mutation of zebrafish s-adenosylhomocysteine hydrolase", en *Development*, 136: 865-875.
- Minchin, E. y F. Rawls, 2017a, "A classification system for zebrafish adipose tissues", en *Disease Models & Mechanisms*, 10: 797-09.
- Minchin, E. y F. Rawls, 2017b, "In vivo imaging and quantification of regional adiposity in zebrafish", en *Methods in Cell Biology*, 138: 3-27.
- Morales, P. *et al.*, 2010, "La microbiota intestinal: Un nuevo actor en el desarrollo de la obesidad", en *Revista médica de Chile*, 138(8): 1020-1027.
- Navarro, B. *et al.*, 2019, "Overfeeding a high-fat diet promotes sex-specific alteration on the gut microbiota of the zebrafish (*Danio rerio*)", en *Zebrafish*, 16(3): 268-279.
- Nowik, N. *et al.*, 2015, "Zebrafish: an animal model for research in veterinary medicine", en *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 18(3): 663-674.
- Oka, T. *et al.*, 2010, "Diet-induced obesity in zebrafish shares common pathophysiological pathways with mammalian obesity", en *BMC Physiol*, 10(21): 1-13.

- Okazaki, F. 2018, "Microbiome alteration in type 2 diabetes mellitus modelo f zebrafish", en *Scientifis Report*, 867: 1-10.
- Patton, E. e I. Zon, 2001, "The art and design of genetic screens: zebrafish", en *Nat Rev Genet*, 2: 956-966
- Periasamy, M. *et al.*, 2017, "Skeletal muscle thermogenesis and its role in whole body energy metabolism", en *Diabetes Metab. J*, 41: 327-336.
- Prince, E. *et al.*, 2017, "Zebrafish Pancreas Development and Regeneration", en *Zebrafish at the Interface of Development and Disease Research*, 124: 235-276.
- Quinlivan, H. y A. Farber, 2017, "Lipid Uptake, Metabolism, and Transport in the Larval Zebrafish", en *Frontiers in endocrinology*, 8(319): 1-11.
- Rajla, S. *et al.*, 2015, "Zebrafish (danio rerio): The future of animal model in biomedical research", en *Journal of Fisheries Sciences*, 9(3): 039-045.
- Robles, V. *et al.*, 2009, "Germplasm Cryobanking in Zebrafish and Other Aquarium Model Species", *Zebrafish*, 6(3): 281-293.
- Romero, W., 2016, "El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio", en *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 33(2): 288-299.
- Sadler, C. *et al.*, 2005, "A genetic screen in zebrafish identifies the mutants *vps18*, *nf2* and *foie gras* as models of liver disease", en *Development*, 132: 3561-3572.
- Salmi, M. *et al.*, 2019, "Dissecting metabolism using zebrafish models of Disease", en *Biochemical Society Transactions*, 47(1): 305-315.
- Sarasamma, S. *et al.*, 2017, "Zebrafish: A Premier Vertebrate Model for Biomedical Research in Indian Scenario", en *Zebrafish*, 14(6): 589-605.
- Seth, A. *et al.*, 2013, "The emerging use of zebrafish to model metabolic disease", en *Disease models & mechanisms*, 6(5): 1080-8.
- Schlegel, A. y Y. Stainier, 2006, "Microsomal triglyceride transfer protein is required for yolk lipid utilization and absorption of dietary lipids in zebrafish larvae", en *Biochemistry*, 45(51): 15179-87.
- Schlegel, A. y P. Gut, 2015, "Metabolic insights from zebrafish genetics, physiology, and chemical biology", en *Cell. Mol. Life Sci*, 72: 2249-2260.
- Semova, I. *et al.*, 2012, "Microbiota regulate intestinal absorption and metabolism of fatty acids in the zebrafish", en *Cell Host Microbe*, 12: 277-288.
- Shin, E. *et al.*, 2012, "An optimal establishment of an acute hyperglycemia zebrafish model", en *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(42): 2922-2928.
- Shin, R. *et al.*, 2015, "Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota", en *Trends Biotechnol*, 33: 496-503.

- Simonetti, B. *et al.*, 2015, "Zebrafish (*Danio rerio*): the future of animal model in biomedical research", en *Journal of Fisheries Sciences*, 9(3): 39-45.
- Sonali, K. *et al.*, 2015, "Alternatives to animal testing: A review", en *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(3): 223-229.
- Toni, M. *et al.*, 2018, "Assessing fish welfare in research and aquaculture, with a focus on European directives", en *Animal*, 13(1): 161-170.
- Vargas, R., 2017, "Pez cebra (*Danio rerio*) y anestesia. Un modelo animal alternativo para realizar investigación biomédica básica", en *Anestesia en México*, 29(Supl. 1): 86-96.
- Yang, H. y R. Tiersch, 2008, "Current status of sperm cryopreservation in biomedical research fish models: zebrafish, medaka, and *Xiphophorus*", en *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP*, 149(2): 224-32.
- Zang, L. *et al.*, 2017, "Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus", en *Scientific Reports*: 1461: 1-11.
- Zang, L. *et al.*, 2018, "Zebrafish as a Model for Obesity and Diabetes", en *Frontiers in cell and developmental biology*, 6(91): 1-13.
- Zeituni, M. y A. Farber, 2016, "Studying Lipid Metabolism and Transport During Zebrafish Development", en *Methods Mol Biol*: 1451: 237-55.

