

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITARIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

GISLANYA EUFRÁSIO CARVALHO

**UTILIZAÇÃO DO ZEBRAFISH (*Danio rerio*) COMO MODELO ANIMAL
ALTERNATIVO DE ESTUDO PARA DIABETES *MELLITUS* 2: UMA REVISÃO DE
LITERATURA**

Juazeiro do Norte – CE

2021

GISLANYA EUFRÁSIO CARVALHO

**UTILIZAÇÃO DO ZEBRAFISH (*Danio rerio*) COMO MODELO ANIMAL
ALTERNATIVO DE ESTUDO PARA DIABETES *MELLITUS* 2: UMA REVISÃO DE
LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso –
Artigo Científico, apresentado à
Coordenação do Curso de Graduação em
Biomedicina do Centro Universitário
Leão Sampaio, em cumprimento às
exigências para a obtenção do grau de
bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Profa. Ma. Amanda
Karine de Sousa

Juazeiro do Norte – CE
2021

GISLANYA EUFRÁSIO CARVALHO

**UTILIZAÇÃO DO ZEBRAFISH (*Danio rerio*) COMO MODELO ANIMAL
ALTERNATIVO DE ESTUDO PARA DIABETES *MELLITUS* 2: UMA REVISÃO DE
LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso –
Artigo Científico, apresentado à
Coordenação do Curso de Graduação em
Biomedicina do Centro Universitário
Leão Sampaio, em cumprimento às
exigências para a obtenção do grau de
bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Profa. Ma. Amanda
Karine de Sousa

Data de aprovação: 29/11/2021

BANCA EXAMINADORA

Profa. Ma. Amanda Karine de Sousa
Orientadora

Profa. Ma. Helenicy Nogueira Holanda Veras
Examinadora 1

Profa. Ma. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro
Examinadora 2

Dedico esse trabalho à minha família, que sempre permitiu e proporcionou a realização de meus sonhos, em especial à minha mãe, Oselisia Eufrázio Neco, e minha irmã, Gilvanya Eufrázio Carvalho, vocês são a minha base de tudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus que com toda sua graça e bondade me deu forças para concluir mais esta etapa da minha vida.

À minha família que me proporcionou este momento e que sempre foi uma grande incentivadora da minha vida acadêmica, permitindo a realização deste sonho, em especial à minha mãe e irmã. Agradeço também ao meu namorado, meu maior incentivador, por todo seu companheirismo, que aguentou muitas de minhas crises ansiosas e sempre me apoiou me levando à terapia.

Aos meus amigos que fiz durante a graduação e que me ajudaram durante esses quatro anos, sendo um grande alicerce em minha vida, em especial à Bianca, Mirella, Luiza, Hellena, Ana Victória, Vanessa, Vinicius e Thamires, sendo esta última a pessoa que me ajudou a dar o pontapé inicial do meu TCC (sem vocês esse trabalho não teria sido o mesmo). Obrigada pela troca diária de memes e sabedoria, jamais esquecerei vocês! Àqueles que, de forma indireta e não necessariamente feitos na graduação que também me ajudaram a construir não só este trabalho, mas a profissional que me tornarei em breve, deixo a vocês meu muito obrigada.

À minha orientadora maravilhosa, que por muitas vezes, mesmo que cansada e com todas as suas ocupações, teve toda disposição (e paciência) para me orientar neste trabalho. Você é uma mulher incrível e eu sou muito grata por todos os conselhos e por sempre tentar me tranquilizar.

E por fim, e não menos importante, agradeço a mim mesma, por todo o meu esforço e dedicação, e por mesmo que muitas vezes duvidei da minha capacidade, sempre estive disposta a dar o meu melhor e se orgulhar a cada pequena conquista realizada.

UTILIZAÇÃO DO ZEBRAFISH (*Danio rerio*) COMO MODELO ANIMAL ALTERNATIVO DE ESTUDO PARA DIABETES MELLITUS 2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Gislanya Eufrásio Carvalho¹, Amanda Karine de Sousa².

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo discutir a utilização do Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo animal alternativo de estudo para o diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2). Trata-se de uma revisão de literatura, descritiva, com abordagem quantitativa e qualitativa. Foi realizada através de artigos da plataforma *PubMed*, tendo sido feita uma triagem entre quatro plataformas (*PubMed*, *Scielo*, *LILACS* e *BVS*) para avaliar qual possuía mais artigos, utilizando os descritores Zebrafish e Diabetes, utilizando publicações nos idiomas português, inglês e espanhol, dos últimos 10 anos, empregando o moderador booleano “and”. Foram descartados os trabalhos em que não foi possível obter acesso ou que fossem revisão de literatura. Na busca foram encontrados 649 artigos, obedecendo aos critérios estabelecidos, estes trabalhos passaram por três etapas de seleção: a exclusão a partir do título, a leitura do resumo e o acesso ao trabalho na íntegra. Resultando em 20 artigos selecionados, sendo esta a quantidade de artigos utilizados para elaboração desse estudo. Os estudos abordaram o Zebrafish (ZF) de diversas formas, como por exemplo através da manipulação gênica, dieta induzida, testagem de novas drogas, bem como o estudo da regeneração celular, possuindo ampla plasticidade, mostrando que esse modelo é viável em diversas abordagens para o estudo do diabetes. O ZF se destaca como um modelo promissor em relação aos roedores, tendo grandes vantagens em sua utilização, sendo uma boa alternativa para preceder testes em mamíferos, barateando o custo de diversos estudos e facilitando a descoberta de informações importantes acerca do diabetes *mellitus* 2.

Palavras-chave: *Danio rerio*. Diabetes *mellitus*. Modelo animal. Zebrafish.

USE OF ZEBRAFISH AS AN ALTERNATIVE ANIMAL STUDY MODEL FOR DIABETES MELLITUS 2: A LITERATURE REVIEW

ABSTRACT

The study aimed to discuss the use of Zebrafish (*Danio rerio*) as an alternative animal study model for type 2 diabetes *mellitus* (T2DM). This is a descriptive literature review with a quantitative and qualitative approach. It was performed using articles from the *PubMed* platform, with a screening between four platforms (*PubMed*, *Scielo*, *LILACS* and *BVS*) to assess which had more articles, using the keywords Zebrafish and Diabetes, using publications in Portuguese, English and Spanish, of the last ten years, employing the boolean moderator “and”. Papers in which it was not possible to obtain access or that were a literature review were discarded. In the search, 649 articles were found, obeying the established criteria, these works went through three selection stages: exclusion based on the title, reading the abstract and access to the work in full. Resulting in 20 selected articles, this being the number of articles used to prepare this study. The studies addressed the Zebrafish (ZF) in different ways, such as through gene manipulation, induced diet, testing of new drugs, as well as the study of cell regeneration, having ample plasticity, showing that this model is viable in

¹ Discente do curso de Biomedicina, gislanyaefrasi@gmail.com . Centro Universitário Dr. Leão Sampaio

² Docente do curso de Biomedicina, amandakarine@leaosampaio.edu.br . Centro Universitário Dr. Leão Sampaio

different approaches to the study of diabetes. ZF stands out as a promising model in relation to rodents, having great advantages in its use, being a good alternative to precede tests in mammals, lowering the cost of several studies and facilitating the discovery of important information about type 2 diabetes *mellitus*.

Keywords: *Danio rerio*. Diabetes *mellitus*. Animal model. Zebrafish.

1 INTRODUÇÃO

Diabetes *mellitus* (DM) é considerada uma das quatro principais doenças não transmissíveis no mundo. Existem diversos tipos de diabetes *mellitus*, como o diabetes tipo 1, tipo 2 e gestacional. O tipo 2 (DM2) está bastante relacionado com a hiperglicemia, inflamação e estresse oxidativo induzido por hiperglicemia, fatores que podem ser ocasionados devido a predisposição genética e/ou, principalmente, ao estilo de vida sedentário (OGUNTIBEJU, 2019; ZHENG; LEY; HU, 2018).

Grande parte das descobertas terapêuticas para o DM foram feitas através de estudos utilizando animais, sendo os mamíferos os que mais se destacam, como os primatas e os roedores. Sua utilização é de grande importância para validar e otimizar terapias medicamentosas a fim de detectar e minimizar potenciais efeitos adversos e toxicidade indesejada, protegendo os voluntários de estudos clínicos consecutivos (KLEINERT et al., 2018).

Para o estudo desta doença, o ZF (*Danio rerio*), pequeno peixe tropical de água doce, é um modelo que vem sendo bastante utilizado, nesta e em outras áreas de pesquisa. Já existem estudos sobre sua utilização para avaliar a biocompatibilidade de nanopartículas, a toxicidade de metais e o desenvolvimento de doenças infecciosas, além de argumentar sobre distúrbios na hematopoiese e outras alterações fisiológicas (CARTNER et al., 2019; HAQUE; WARD, 2018; GORE et al., 2018; ROSOWSKI et al., 2018).

Esse modelo permite a utilização tanto de suas larvas como de seus embriões, sendo bastante semelhante a outros vertebrados quando se trata de sinalização molecular, composição genética e conformação de tecidos e órgãos, bem como no neurodesenvolvimento. No Brasil, o Zebrafish vem sendo bastante utilizado, principalmente nas áreas de neurociência, farmacologia e ecologia (D'AMORA; GIORDANI, 2018; TRIGUEIRO et al., 2020).

Como modelo animal alternativo, o Zebrafish vem sendo cada vez mais utilizado para estudos relacionados ao diabetes. Este modelo possui vários métodos de indução hiperglicêmica em espécies modificadas geneticamente ou não. Além disso, tem uma grande capacidade de modelar doenças metabólicas, possuindo mecanismos fisiometabólicos

semelhantes aos humanos, tendo grande capacidade de se tornar um modelo importante para investigação de danos causados pelo DM2 (SALEHPOUR et al., 2021; WIGGENHAUSER; KROLL, 2019).

Dessa forma, o Zebrafish possibilita acelerar o processo de pesquisa, devido a diversas características, principalmente ao fato de ter seu genoma totalmente sequenciado, um rápido desenvolvimento e a facilidade de sua manipulação genética, que associado com a inovação e o aperfeiçoamento de técnicas moleculares, permitirá que este continue como um importante modelo biomédico de pesquisa, de forma frequente relacionada ao diabetes *mellitus 2* (SALEHPOUR et al., 2021; TEAME et al., 2019).

Apesar de sua semelhança fisiometabólica aos humanos e seus diversos benefícios, ainda é um modelo relativamente novo e desconhecido. Possui como vantagem o fato de ser mais econômico, permite a utilização em diferentes fases de vida e possui uma alta reprodutibilidade, além de possibilitar a visualização de determinados resultados de forma não invasiva. Tais características permitem ao ZF se encaixar ao princípio dos 3R's (do inglês *Replacement, Reduction and Refinement*, que em português denomina-se Substituição, Redução e Refinamento), que por meio de ações éticas e financeiras, atua na substituição de alguns animais, utilização de uma menor quantidade destes e realização de métodos que minimizem a dor, buscando o melhor bem-estar animal (RUSSELL; BURCH, 1959). Assim, objetivou-se com este estudo discutir a utilização do Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo animal alternativo de estudos para o diabetes *mellitus 2*.

2 DESENVOLVIMENTO

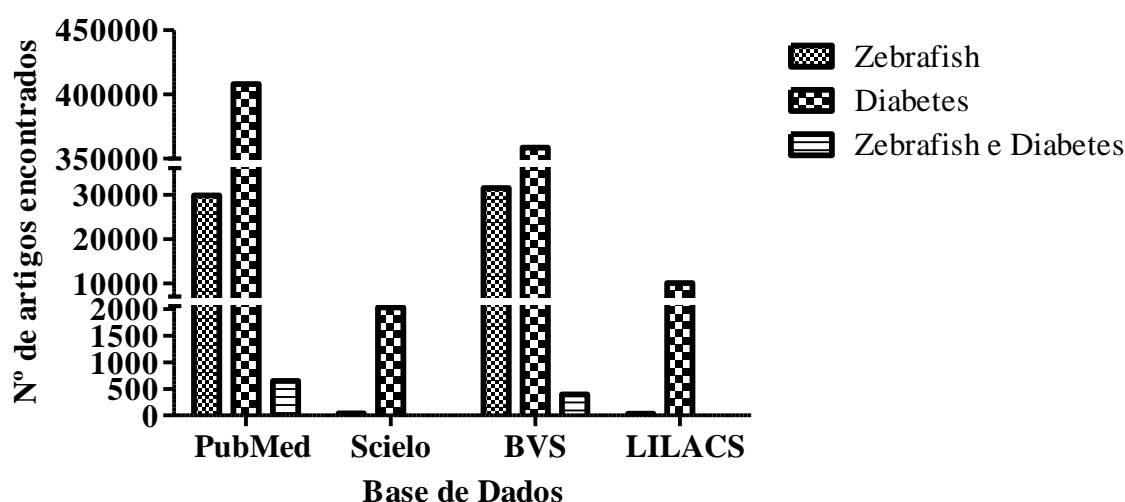
Trata-se de uma revisão de literatura, descritiva, com abordagem quantitativa e qualitativa. A coleta dos dados foi feita a partir de artigos científicos disponíveis na base de dados do *PubMed*, foram utilizadas publicações científicas dos últimos 10 anos (2011 a 2021). Na busca foram utilizados os seguintes descritores: Zebrafish e Diabetes, utilizando o moderador booleano “and”. Foi feito o uso de publicações nos idiomas inglês, português e espanhol. Dentre os materiais analisados foram utilizados artigos de revistas, jornais e periódicos.

Foram inclusos no presente estudo, trabalhos que abordam a forma como o Zebrafish é utilizado como modelo de estudos para o diabetes e a seleção foi realizada a partir de três etapas: inicialmente pelo título, posteriormente a leitura do resumo e por último, o acesso aos trabalhos selecionados na íntegra. Foram excluídos os artigos que não

foi possível acessar o trabalho completo ou que se tratasse de revisão de literatura. Posteriormente, os dados numéricos foram tabulados utilizando o *Microsoft Office Excel*® versão 2013 e expressos em gráficos e tabelas, com auxílio do *software GraphPad Prisma*® versão 5.3.

Foi realizada uma comparação entre quatro tipos de bases de dados (*Scielo*, *PubMed*, *BVS Brasil* e *LILACS*), a fim de avaliar qual possuía maior quantidade de artigos disponíveis.

Gráfico 1. Comparativo entre as quantidades de artigos encontrados em diferentes bases de bancos de dados utilizando os filtros de idioma e ano.



Fonte: Própria autora

A partir do gráfico 1, nota-se que a plataforma *PubMed* é a que contém maior quantidade de artigos de interesse para o presente estudo, com base nos critérios pré-estabelecidos. A *PubMed* possui 649 artigos, o *Scielo* 1, o *BVS Brasil* 371 e o *LILACS* 1 artigo, justificando a escolha pela plataforma *PubMed*.

A partir dos 649 artigos encontradas realizou-se uma leitura inicial do título, averiguando quais se encontravam dentro do tema abordado, nesta primeira seleção foram excluídos 325, já pela leitura do artigo eliminou-se mais 239, e por último, a leitura do trabalho na íntegra excluiu 61 artigos, além disso, não foi possível acessar 4 artigos, restando por fim, 20 artigos.

Através destes artigos, foram observadas diversas contribuições que estudos realizados através do Zebrafish proporcionam. Pesquisas realizadas por Kimmel et al. (2015) utilizaram Zebrafish mutante *pdx1* (gene associado ao aumento na susceptibilidade ao DM2) para caracterizar o desenvolvimento e função de suas ilhotas pancreáticas, relatando que tal linhagem mutante se adequa a estudos de monitoramento *in vivo* de

estágios iniciais de patologias induzidas pela hiperglicemia. Tal informação se confirma em Ali et al. (2020), que utilizaram a linhagem mutante *pdx1* para observar alterações vasculares precoces da retinopatia diabética (RD), tornando o Zebrafish um modelo valioso para complementar estudos com roedores e pesquisas de novos alvos terapêuticos para o tratamento precoce e tardios da RD.

A mutação é uma forma comum para utilização do Zebrafish. Em Mullapudi et al. (2018), foi desenvolvido uma linhagem desprovida de sinalização de insulina (gene *ins* e *insb*) através da técnica de CRISPR/Cas9, obtendo resultados de ausência de insulina e aumento de glicose total em mutantes *ins*, corroborando para uma conclusão de que o tal gene é crucial para a homeostase metabólica e sobrevivência, abrindo assim novos caminhos para a criação de novas terapias.

Em Facchinello et al. (2017) foram produzidos Zebrafish TCF712, também mutantes, associando esse gene à maior susceptibilidade de desenvolver o DM2. Tal gene é bastante expresso no pâncreas exócrino, sendo este modelo caracterizado pela hiperglicemia, defeitos vasculares e pancreáticos e regeneração diminuída, comprovando o efeito pleiotrópico do gene TCF712 e sua ligação com a patogênese do DM2, permitindo que o ZF seja uma ótima ferramenta de triagem no futuro.

Outra forma de utilizar o ZF como modelo para o DM2 é através de dietas induzidas. Em Wang et al. (2013) foi induzida uma dieta rica em colesterol e alta exposição à glicose a fim de identificar complicações vasculares diabéticas. Isso induziu um metabolismo diabético nos peixes, gerando anormalidades vasculares como danos às células endoteliais, acúmulo de lipídeos nos vasos e infiltração de células inflamatórias, além da diminuição da velocidade do fluxo sanguíneo, que foi possível observar através de técnicas de fluorescência. Tais resultados sugerem o ZF como modelo para vasculopatia diabética, podendo refletir mudanças similares a dos modelos mamíferos pré-existent.

Já em Zang; Shimada; Nishimura (2017) foram utilizados alimentos para peixes comercialmente disponíveis, alimentando-os de maneira excessiva. Foram observados aumento na glicemia em jejum e na produção de insulina, demonstrando uma diminuída tolerância à glicose, além de um aumento na massa β celular em resposta a hiperglicemia. Foi também sequenciado o RNA dos peixes, descobrindo vias comuns ao DM humano no perfil de expressão gênica do hepato-pâncreas do Zebrafish, permitindo a elucidação de mecanismo iniciais do DM2, provando-o como modelo útil para descoberta de drogas baseadas em fenótipos.

Chhabria et al. (2020) e Chhabria et al. (2019) comentaram acerca da utilização do Nitroprussiato de sódio (NPS) doador de óxido nítrico (ON) e sua atuação na parte neurovascular relacionado ao diabetes utilizando um modelo de Zebrafish.

Tabela 1. Comparação dos trabalhos de Chhabria et al. (2019) e Chhabria et al. (2020).

AUTOR	TÍTULO	ACHADOS IMPORTANTES
CHHABRIA et al. (2020).	<i>The effect of hyperglycemia on neurovascular coupling and cerebrovascular patterning in Zebrafish</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Exposição crônica à glicose no ZF prejudicou a padronização dos vasos sanguíneos tectais e o acoplamento neurovascular; - O NPS doador de óxido nítrico resgatou os efeitos adversos dessa exposição; - Os déficits causados pela diabetes no ZF são revertidos ou diminuídos pelo NPS doador de ON;
CHHABRIA et al. (2019).	<i>Sodium nitroprusside prevents the detrimental effects of glucose on the neurovascular unit and behaviour in Zebrafish</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Exposição à glicose prejudicou a produção de ON vascular, prejudicando o endotélio tectal; - Os ZF possuíam redução na preferência pela luz; - NPS como possível tratamento para disfunção neurovascular associada ao diabetes

Fonte: Própria autora

Como é observado na tabela acima, Chhabria et al. (2020) demonstraram o dano neurovascular ocasionados em ZF transgênicos e observaram a possibilidade de reversão desses danos quando utilizado um doador de óxido nítrico, o NPS. Seus resultados sugerem que os defeitos neurovasculares e cerebrovasculares causados pelo diabetes podem ser tratáveis por drogas como o NPS. Em Chhabria et al. (2019), essa hipótese de reversão do NPS foi testada, obtendo resultados de que o nitroprussiato de sódio doador de óxido nítrico reverte as consequências negativas da hiperglicemia na anatomia e padrões neurovasculares.

O ZF também já é utilizado para triagem de novas drogas. Em Carnovali et al. (2019) a liquiritigenina (LTG) foi testado para avaliação de sua ação antidiabética. Nesse estudo, os resultados indicaram que o LTG preveniu de forma significativa o início da

hiperglicemia em um período de tratamento de 4 semanas, além de prevenir o aumento de produtos da glicação avançada e paratormônio, resultando em uma menor perda óssea em peixes tratados quando comparados aos não tratados, confirmando o LTG como uma abordagem terapêutica natural promissora.

Em Delgadillo-Silva et al. (2019), foi desenvolvido um modelo de ZF de inflamação de ilhotas pancreáticas através da interleucina-1 β , que prejudica a função e identidade das células β , para testagem da função protetiva da Wedelolactona nessas células. Em seus resultados, obteve-se que o derivado da planta medicinal (Wedelolactona) foi capaz de reduzir a infiltração de células imunológicas e a inflamação nas células β , além de melhorar o fenótipo hiperglicêmico do ZF.

Em Oyelaja-Akinsipo; Dare; Katare (2020) foi estudada a capacidade de redução de glicose e neuroproteção da diosgenina (DG) em modelo diabético (tipo 2) com dano cerebral em Zebrafish induzido por hiperglicemia. A DG diminuiu a concentração de glicose, melhorou o peso e padrão de crescimento, além de suprimir a inflamação, tendo também efeitos antioxidantes e capacidade ansiolítica.

Em relação ao diabetes, os modelos de ZF possuem variadas possibilidades, sendo utilizado para avaliar sua função como fator de risco de AVC e declínios cognitivos, o prejuízo nas células β pancreáticas ocasionadas devido a exposição ao bisfenol A e bisfenol S, que implicam no desenvolvimento do diabetes, e investigação do ZF como modelo promissor para inflamação, toxicidade e expressão gênica sob o efeito do diabetes *mellitus* tipo 2 (CHAVDA et al., 2021; GYIMAH et al., 2021; MOHAMMADI et al., 2020).

A resistência à insulina também é um parâmetro avaliado através de modelos utilizando o Zebrafish. Em Maddison et al. (2015) foi desenvolvido um modelo de ZF resistente à insulina a fim de compreender os eventos que ocorrem desde a resistência até a instalação do diabetes, sendo útil para descoberta de novas estratégias de prevenção da doença; em Nam et al. (2021) essa utilidade atribuída ao Zebrafish foi testada, verificando que este é um modelo que demonstrou que o efeito das drogas resistentes à insulina têm efeitos significativos tanto nos peixes como em humanos, comprovando o valor do ZF como modelo insulinoresistente e para seleção de drogas.

Nos estágios consequentes da doença, há uma significativa redução na massa de células β , seja devido a apoptose ou a desdiferenciação em um estágio mais imaturo. Isso torna necessário estudos acerca da regeneração β celular (KARAMPELIAS et al., 2021). Em Ghaye et al. (2015), através de um novo cromossomo bacteriano artificial transgênico,

nkx6.1 e ascl1b, foi possível definir que células nkx6.1 positivas dão origem a todos os tipos de células pancreáticas, já células ascl1-b positivas dão origem a qualquer tipo de célula endócrina no embrião do Zebrafish. Foi visto também que a ablação das células β estimula a proliferação de células ductais e sua diferenciação em células produtoras de insulina, além de identificar que essas células possuem capacidade regenerativa, trazendo uma nova visão sobre regeneração em modelos mamíferos.

Lee et al. (2013) afirmam que a descoberta de novos fármacos para o tratamento do diabetes possivelmente é facilitada com a utilização de uma triagem rápida para identificação de novos compostos semelhantes à insulina. Foi realizado um estudo que desenvolveu um sistema baseado no monitoramento direto do efluxo de glicose, sendo útil para análise toxicológica concomitante a medicamentos antidiabéticos. Desta forma, este modelo rápido e barato pode melhorar a descoberta de fármacos para o diabetes, antecedendo a utilização de modelos roedores comparativamente mais caros.

Desta forma, observa-se que o Zebrafish possui um papel líder em estudos relacionados a regeneração e percepção de vários mecanismos subjacentes ao diabetes, tendo como principais vantagens a sua manutenção de baixo custo e tamanho diminuído que resulta em uma diminuição no orçamento, a grande fecundidade que permite uma ninhada ampla, a claridade óptica que possibilita uso de técnicas de imagem não invasiva, compreensão do seu genoma e por fim, os aspectos éticos que possuem menos obstáculos quando comparado aos modelos atualmente usados. Portanto, o Zebrafish será um modelo importante para realização de estudos para tratamentos personalizados acerca do diabetes (ARJMAND et al., 2020).

3 CONCLUSÃO

Através dos estudos abordados foi possível observar uma ampla utilização desse modelo, de formas diversas. Esses estudos abordaram métodos através da indução genética e alimentar, da triagem de novas drogas, como a testagem da função neuroprotetora de substâncias e suas ações antidiabéticas, da relação entre substâncias e outras doenças com a patogênese do DM2, bem como através de modelos de resistência à insulina e regeneração β celular, conferindo ao ZF uma alta plasticidade e ampla capacidade de aplicação para diversas situações.

Em suma, os autores convergem para a opinião de que o modelo do ZF é bastante favorável para novas pesquisas, apresentando vantagens como transparência corporal e tamanho reduzido, permitindo o barateamento das pesquisas, e abranger uma área da pesquisa

do DM2 que está muito procurada: a regeneração celular. Desta forma, o ZF é uma ótima alternativa para preceder os testes em mamíferos e roedores, minimizando a utilização destes e facilitando o foco para diversas pesquisas que propiciam o benefício à saúde humana, incluindo sobre o diabetes.

REFERÊNCIAS

- ALI, Z. et al. Photoreceptor Degeneration Accompanies Vascular Changes in a Zebrafish Model of Diabetic Retinopathy. **Investigative ophthalmology & visual science**. v. 61, n. 2, p. 43-43. 2020.
- ARJMAND, B. et al. Zebrafish for Personalized Regenerative Medicine; A More Predictive Humanized Model of Endocrine Disease. **Frontiers in Endocrinology**. v. 11, n. 396, p. 1 - 14. 2020.
- CARNOVALI, M. et al. Liquiritigenin Reduces Blood Glucose Level and Bone Adverse Effects in Hyperglycemic Adult Zebrafish. **Nutrients**. v. 11, n. 5, p. 1042. 2019.
- CARTNER, S. et al. **The Zebrafish in Biomedical Research: Biology, Husbandry, Diseases, and Research Applications**. 1 ed. London: Academic Press, 2019.
- CHAVDA, V. et al. Endothelin-1 induced global ischaemia in adult Zebrafish: A model with novel entity of stroke Research. **Journal of Chemical Neuroanatomy**. v. 118, n. 102025, p. 1 – 7. 2021.
- CHHABRIA, K. et al. Sodium nitroprusside prevents the detrimental effects of glucose on the neurovascular unit and behaviour in Zebrafish. **Disease Models & Mechanisms**. v. 12, n. 9, p. 1 -13. 2019.
- CHHABRIA, K. et al. The effect of hyperglycemia on neurovascular coupling and cerebrovascular patterning in Zebrafish. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**. v. 40, n. 2, p. 298 – 313. 2020.
- D'AMORA, M.; GIORDANI, S. The Utility of Zebrafish as a Model for Screening Developmental Neurotoxicity. **Frontiers in Neuroscience**. v. 12, n. 976, p. 1 – 6. 2018.
- DELGADILLO-SILVA, L. F. et al. Modelling Pancreatic β -cell inflammation in Zebrafish identifies the natural product wedelolactone for human islet protection. **Disease Models & Mechanisms**. v. 12, n. 1, p. 1 – 12. 2019.
- FACCHINELLO, N. et al. Tcf7l2 plays pleiotropic roles in the control of glucose homeostasis, pancreas morphology, vascularization and regeneration. **Scientific Reports**. v. 7, n. 1, p. 1 – 16. 2017.
- GHAYE, A. P. et al. Progenitor potential of nkx6.1 – expressing cells through Zebrafish life and during beta cell regeneration. **BMC Biology**. v. 13, n. 1, p. 1- 24. 2015.
- GORE, A. V. et al. The Zebrafish: A fantastic model for hematopoietic development and disease. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Development Biology**. v. 7, n. 3, p. 1 – 17. 2018.

- GYIMAH, E. et al. Embryonic Exposure to Low Concentrations of Bisphenol A and S Altered Genes Related to Pancreatic β -Cell Development and DNA Methyltransferase in Zebrafish. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 80, n. 2, p. 450 – 460. 2021.
- HAQUE, E.; WARD, A. C. Zebrafish as a Model to Evaluate Nanoparticle Toxicity. **Nanomaterials**. v. 8, n. 7, p. 1 – 18. 2018.
- KARAMPELIAS, C. et al. Reinforcing one-carbon metabolism via folic acid/Folr1 promotes β -cell differentiation. **Nature communications**. v. 12, n. 1, p. 1 – 13. 2021.
- KIMMEL, R. A. et al. Diabetic *pdx1*-mutant Zebrafish show conserved responses to nutrient overload and anti-glycemic treatment. **Scientific Reports**. v. 5, n. 1, p. 1 – 14. 2015.
- KLEINERT, M. et al. Animal models of obesity and diabetes *mellitus*. **Nature Reviews Endocrinology**. v. 14, n. 3. p. 140 – 162. 2018.
- LEE, J. et al. Development of Highly Visual, Simple, and Rapi Test for the Discovery of Novel Insulin Mimetics in Living Vertebrates. **ASC chemical biology**. v. 8, n. 8, p. 1803 – 1814. 2013.
- MADDISON, L. A. et al. Skeletal muscle insulin resistance in Zebrafish induces alterations in β -cell number and glucose tolerance in a age diet dependent manner. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**. v. 308, n. 8, p. 662 – 669. 2015.
- MOHAMMADI, H. et al. Concurrent metformin and silibinin therapy in diabetes: assessments in Zebrafish (*Danio rerio*) animal model. **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**. v. 19, n. 2, p. 1233 – 1244. 2020.
- MULLAPUDI, S. T. et al. Screening for insulin-independent pathways that modulate glucose homeostasis identifies androgen receptor antagonists. **Elife Sciences**. v. 7, p. 1 – 18. 2018.
- NAM, Y. H. et al. Characteristics of the New Insulin-Resistant Zebrafish Model. **Pharmaceuticals**. v. 14, n. 7, p. 642 – 657. 2021.
- OGUNTIBEJU, O. O. Type 2 diabetes *mellitus*, oxidative stress and inflammation: examining the links. **Internacional Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology**. v. 11, n. 3, p. 45 – 63. 2019.
- OYELAJA-AKINSIPO, O. B.; DARE, E. O.; KATARE, D. P. Protective role of diosgenin Against hyperglycaemia-mediated cerebral ischemic brain injury in Zebrafish model of type II diabetes *mellitus*. **Heliyon**. v. 6, n. 1, p. 1 – 10. 2020.
- ROSOWSKI, E. E. et al. The Zebrafish as a Model Host for Invasive Fungal Infections. **Journal of fungi**. v. 4, n. 4, p. 1 – 26. 2018.
- RUSSEL, W. M. S.; BURCH, R. L. **The principles of humane experimental technique**. 1 ed. London: Methuen, 1959.

SALEHPOUR, A. et al. Which Hyperglycemic Model of Zebrafish (*Danio rerio*) Suits My Type 2 Diabetes *Mellitus* Research? A Scoring System for Available Methods. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**. v. 9, n. 652061, p. 1 – 15. 2021.

TEAME, T. et al. The use of Zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. **Animal Frontiers**. v. 9, n. 3, p. 68 – 77. 2019.

TRIGUEIRO, N. S. S. et al. Zebrafish as an Emerging model System in the Global South: Two Decades of Researching in Brazil. **Zebrafish**. v. 14, n. 6, p. 1 – 14. 2020.

WANG, Z. et al. Impact of a Combined High Cholesterol Diet and High Glucose Environment of Vasculature. **PLoS One**. v. 8, n. 12, p. 1 – 7. 2013.

WIGGENHAUSER, L. M.; KROLL, J. Vascular Damage in Obesity and Diabetes: Highlighting Links Between Endothelial Dysfunction and Metabolic Disease in Zebrafish and Man. **Current Vascular Pharmacology**. v. 17, n. 5, p. 476 – 490. 2019.

ZANG, L.; SHIMADA, Y.; NISHIMURA, N. Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes *Mellitus*. **Scientific Reports**. v. 7, n. 1, p. 1 – 11. 2017.

ZHENG, Y.; LEY, S. H.; HU, F. B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes *mellitus* and its complications. **Nature Reviews Endocrinology**. v. 14, n. 2, p. 88 – 98. 2018.