

Bölüm 9

MODEL ORGANİZMA OLARAK *Poecilia reticulata*'da BAŞ BÖBREĞİ VE KAN YAPIM SÜREÇLERİ¹

Tülin ÇETİN², Sema İŞİSAĞ ÜÇÜNCÜ³

Giriş

Bilindiği gibi kan yapım süreci (hematopoezis) tüm omurgalılar için embriyonik dönemden itibaren yaşamsal önem taşır. Bu süreçte oluşabilecek düzensizlikler ve hastalıkların belirlenmesi ve tedavisinde model organizmalar çok yaygın olarak kullanılır. Kemikli balıklardan (Teleostei) laboratuvar ortamına kolayca uyum sağlayan küçük tatlı su balıkları, kısa yaşam döngüleri, bakımlarının kolay ve ekonomik olması, kısa sürede çok sayıda yavru vermeleri gibi nitelikleriyle modelleme çalışmaları için gerçekten çok uygun materyallerdir. Bu alanda en bilinen örnek, genomu insan genomu ile önemli ölçüde benzerlik gösteren zebra balığıdır (*Danio rerio*). Bu türün kullanıldığı araştırmalara ilişkin raporlar burada sayılamayacak kadar fazladır. Zebra balığı gibi tüm özellikleri gayet iyi bilinen bir organizmayla çalışmak gerçekten büyük bir konfor ve her anlamda tasarruf sağlar. Ancak bu kolaylıkların ciddi bir bedeli vardır: Hep aynı tür üzerinde çalışıldıkça biyolojik çeşitliliğin doğal uzantısı olan farklılıklar değerlendirilemez ve veri tabanlarında dengesizlik oluşur. Veri tabanlarının doğal çeşitliliğe uyum sağlaması için farklı türlerle araştırma yapmak gerekir.

Çok popüler bir akvaryum balığı olan lepistes (gupy, *P. reticulata*) bu doğrultuda davranış, moleküler evrim, gelişim biyolojisi, populasyon genetiği, kanser ve ekotoksikoloji alanlarında araştırmalarda materyal olarak kullanılmıştır (Khoo & ark., 1999; Nakajima & Taniguchi, 2001; Reznick & ark., 2001; Dahm & Geisler, 2006; Boran & ark., 2007; Gerhard, 2007; Shaddock, 2009; Roy & ark., 2013).

Teleostlarda böbreğin boşaltıma ek olarak hematopoetik işlevlerinin de olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir (Fijan, 1961). Erginlerde hematopoesiz başlıca timus, dalak ve mezonefroz böbrekte gerçekleşir (Esteban & ark., 1989; Meseguer & ark., 1990; Romano & ark., 1998; Esteban & ark., 2000; Fishelson, 2006; Kondera, 2011); bazı kaynaklara göre bu süreçte sindirim sistemi ve epikardiyum, hatta deri, solungaçlar ve karaciğer de görev üstlenir (Fish Necropsy Manuel, 2015). Bu organların görevleri bazı türlerde eşit dağılırken diğer bazılarında farklı ağırlıklardadır (Homechaudhuri, 2001). Kondera (2011), *Salmo trutta*'da sadece dalağın, *Rutilus rutilus*'da sadece böbreğin, *Perca fluviatilis*'de ise her iki organın da aktif olduğunu bildirmektedir.

¹Dr., Çalışma, birinci yazarın doktora tezinin bir bölümüdür.

²Prof. Dr. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bornova 35100 İzmir

³Prof. Dr. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bornova 35100 İzmir

Sonuç

P. reticulata ekotoksikolojik araştırmalar başta olmak üzere ilaç araştırmaları da dahil, insan sağlığını dolaylı ya da doğrudan ilgilendiren farklı çalışma alanları için model olarak gerçekten kullanışlı bir alternatif oluşturur. Hem araştırma suresinde hiçbir ölüm olgusu gözlenmemesi, hem de total kesitler bu sonucu kuvvetle destekler.

Total preparasyon özellikle endokrin organların histopatolojik incelenmesinde yaşanacak oryantasyon zorluklarının ve doku kayıplarının engellenebilmesi için büyük bir avantaj sağlar. Kolayca hazırlanabilecek total preparatlarda tüm yapılar aynı anda izlenebilir ve paralel değerlendirmelerde bulunulabilir, karşılaştırmalar kolayca yapılabilir. Çok daha az sayıda hayvan kullanılarak sağlanan bu kolaylıklar, son dönemlerde haklı olarak artan bazı etik kaygıların giderilmesinde çok büyük önem taşır. Bu yöntemle ayrıca zahmetli laboratuvar işlemleri azalır, daha kısa zaman harcanmış ve daha az laboratuvar malzemesi kullanılmış olur. Böylece araştırmalara ayrılan kaynakların ekonomik anlamda daha verimli kullanımı sağlanarak harcama kalemleri düşürülebilir.

Çok işlevli yapısıyla baş böbreği ayrıca ideal bir çalışma materyalidir. Kan yapımı, bağışıklık ve endokrin süreçlerin, ayrıca en azından *P. reticulata* için büyük olasılıkla boşaltım sürecinin tek organ üzerinden değerlendirilmesini sağlar. Sucul sistemlerde çeşitli kimyasal maddelerin etkileri, genellikle solungaç-deri ve karaciğer ekseninde sürdürülen çalışmalarla değerlendirilir. Bu araştırmalara baş böbreğinin de dahil edilmesi daha ayrıntılı bilgiler sağlayacaktır. Gelecekte renal işlevlere ilişkin olarak yapılacak değerlendirmelerin, teleost böbreğinin evrim sürecindeki durumu açısından önemli sonuçlar vermesi beklenir.

Ayrıca ve önemle, baş böbreğinin immün ve endokrin işlevleri hakkında geniş bir çalışma alanı bulunduğu açıktır; bu işlevler hakkındaki bilgilerin artmasıyla çok farklı sonuçlara varılabilir.

Teşekkür

Bu çalışmayı da içeren doktora tezi araştırmasını 2010-FEN-062 numaralı proje kapsamında destekleyen Ege Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Fon Saymanlığına teşekkür ederiz.

Kaynakça

Abdel-Aziz, E. S. H., El-Sayed Ali, T., Abdu, S. & Fouad, H., 2010a. Chromaffin cells and interrenal tissue in the head kidney of the grouper, *Epinephilus tauvina* (Teleostei, Serranidae): a morphological (optical and ultrastructural) study. *Journal of Applied Ichthyology*, 1-6.

Abdel-Aziz, E. S. H., Abdu, S., El-Sayed Ali, T. S. & Fouad, H., 2010b. Haemopoiesis in the head kidney of tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae): a morphological (optical and ultrastructural) study. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36, 323-336.

Avagyan, S. & Zon, L. 2016. Fish to learn: insights into blood development and blood disorders from zebrafish hematopoiesis. *Human Gene Therapy*, 27(4), 287-294.

- Bennett, C. M., Kanki, J. P., Rhodes, J., Liu, T. X., Paw, B. H., Kieran, M. W., Langenau, D. M., Delahaye-Brown, A., Zon, L. I., Fleming, M. D. & Look, T. A., 2001. Myelopoiesis in the zebrafish, *Danio rerio*. *Blood*, 98(3), 643-651.
- Berman, J. N., Kanki, J. P. & Look, T. A., 2005. Zebrafish as a model for myelopoiesis during embryogenesis. *Experimental Hematology*, 33, 997-1006.
- Boran, M., Altınok, İ., Çapkın, E., Karaçam, H., & Biçer, V. 2007. Acute toxicity of carbaryl, methiocarb, and carbosulfan to the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and guppy (*Poecilia reticulata*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 31(1), 39-45
- Carradice, D. & Lieschke, G., 2008. Zebrafish in hematology: sushi or science? *Blood*, 111, 3331-3342.
- Covello, J., Bird, S., Morrison, R., Bridle, A., Battaglene, S., Secombes, C. & Nowak, B., 2013. Isolation of RAG-1 and IgM transcripts from the striped trumpeter (*Latris lineata*), and their expression as markers for development of the adaptive immune response. *Fish and Shellfish Immunology*, 34, 778-788.
- Dahm, R. & Geisler, R., 2006. Learning from small fry: the zebrafish as a genetic model organism for aquaculture fish species. *Marine Biotechnology*, 8, 329-345.
- Demir, N., 2009. *İhtiyoloji*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 4. Baskı, 424s.
- Diago, M., Lo'pez-Fierro, P., Razquin, B. & Villena, A., 1998. In vitro haemopoiesis induced in rainbow trout pronephric stromal cell line TPS. *Fish and Shellfish Immunology*, 8, 101-109.
- Ellis, A. E., 2001. Innate host defence mechanism of fish against viruses and bacteria. *Developmental and Comparative Immunology*, 25, 827-839.
- Esteban, M., Muñoz, J. & Meseguer, J., 2000. Blood cells of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Flow cytometric and microscopic studies. *The Anatomical Record* 2000, 258(1), 80-89.
- Esteban, M. & Meseguer, J., 1994. Phagocytic defence mechanism in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): an ultrastructural study. *The Anatomical Record*, 240(4), 589-597.
- Esteban, M., Meseguer, J., Ayala, A. G. & Agulleiro, B., 1989. Erythropoiesis and thrombopoiesis in the head-kidney of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): an ultrastructural study. *Archives of Histology and Cytology*, 52(4), 407-419.
- Fijan, N., 1961. Haemopoietic function of kidneys in some species of freshwater fish. *Bioloski Glasnik*, 14, 167-208.
- Fijan, N., 2002a. Morphogenesis of blood cell lineages in channel catfish. *Journal of Fish Biology*, 60, 999-1014.
- Fijan, N., 2002b. Composition of main haematopoietic compartments in normal and bled channel catfish. *Journal of Fish Biology*, 60, 1142-1154.
- Filatreau, S., Six, A., Magadan, S., Castro, R., Sunyer, O. J. & Boudinot, P., 2013. The Astonishing diversity of Ig Classes and B Cell Repertoires in Teleost Fish. *Frontiers in Immunology*, 4(28), 1-14.
- Fish Necropsy Manual, 2015. <https://www.necropsymanual.net/en/teleosts-anatomy/haemato-and-lymphopoietic-systems/> Erişim Tarihi: 29.08.2018.
- Fishelson, L., 1996. Ontogenesis and functional metamorphosis of the head-kidney in bottomspawner and mouthbrooder cichlid fishes (Cichlidae, Teleostei). *Journal of Morphology*, 229, 1-21.
- Fishelson, L., 2006. Cytomorphological alterations of the thymus, spleen, head-kidney, and liver in cardinal fish (Apogonidae, Teleostei) as bioindicators of stress. *Journal of Morphology*, 267, 57-69.
- Flerova, E. & Balabanova, L., 2013. Ultrastructure of granulocytes of teleost fish (Salmoniformes, Cypriniformes, Perciformes). *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 49(2), 223-233.
- Gallo, V. & Civinini, A., 2003. Survey of the adrenal homolog in teleosts. *International Review of Cytology*, 230, 89-187.
- Gangopadhyay, K. & Sumit Homechaudhuri, S., 2011. Descriptive characteristics of haemopoietic cell lineages in facultative air breathing fish *Clarias batrachus* (L.). *Turkish Journal of Zoology*, 35(5), 737-746.
- Gerhard, G. S., 2007. Small laboratory fish as models for aging research. *Ageing Research Reviews*, 6, 64-72.
- Hansen, J. D. & Kaatari, S. L., 1995. The recombination activation gene 1 (RAG1) of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): cloning, expression, and phylogenetic analysis. *Immunogenetics*, 42, 188-195.
- Homechaudhuri, S., 2001. A technique to evaluate the erythropoietic efficiency in fish. *Asian Fisheries Science*, 14, 453-455.
- Hoole, D., Bucke, D., Burgess, P. & Wellby, I., 2001. Diseases of carp and other cyprinid fishes. Blackwell Science Ltd./Fishing News Books, Oxford, 253pp.
- Hsu, H. J., Lin, G. & Chung, B. C., 2003. Parallel early development of zebrafish interrenal glands and pronephros: differential control by wt1 and ff1b. *Development*, 130:2107-2116.
- Hunt, L. R. & Rice, C. D., 2008. Lymphoid tissue ontogeny in the mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *The Anatomical Record*, 291, 1236-1245.

Huttenhuis, H. B., Huisinga, M. O., Meulen, T., Oosterhouda, C. N., Sanchez, N. A., Taverne-Thiele, A. J., Stroband H. W. & Rombout, J. H., 2005, Rag expression identifies B and T cell lymphopoietic tissues during the development of common carp (*Cyprinus carpio*). *Developmental and Comparative Immunology*, 29, 1033-1047.

Ishizeki, K., Nawa, T. Tachibana, T. Sakakura, Y., & Iida, S., 1984. Hemopoietic sites and development of eosinophil granulocytes in the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Cell and Tissue Research*, 235(2), 419-426.

Ivanovski, O., Kulkeaw, K., Nakagawa, M., Sasaki, T., Mizuochi, C., Horio, Y., Ishitani, T. & Sugiyama, D., 2009. Characterization of kidney marrow in zebrafish (*Danio rerio*) by using a new surgical technique. *Contributions, Sec. Biol. Med. Sci., MASA*, 30(2), 71-80.

Khoo, G., Lim, T. M., Chan, W.-K. & Phang, V. P., 1999. genetic basis of the variegated tail pattern in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Zoological Science*, 16, 431-437.

Kobayashia, I., Sekiyaa, M., Moritomoa, T., Ototakeb, M., & Nakanishia, T., 2006. Demonstration of hematopoietic stem cells in ginbuna carp (*Carassius auratus langsdorfii*) kidney. *Developmental and Comparative Immunology*, 30, 1034-1046.

Kobelkowsky, A., 2013. Morphology and dissection technique of the kidney of the grey snapper *Lutjanus griseus* (Teleostei: Lutjanidae). *International Journal of Morphology*, 31(2), 553-561.

Kondera, E. & Witeska, M., 2013. Cadmium and copper reduce hematopoietic potential in common carp (*Cyprinus carpio* L.) head kidney. *Fish Physiology and Biochemistry*, 39(4), 755-764.

Kondera, E., 2011. Haematopoiesis in the head kidney of common carp (*Cyprinus carpio* L.): a morphological study. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37, 355-362.

Lieschke, G. J., Oates, A. C., Crowhurst, M. O., Ward, A. C. & Layton, J. E., 2001. Morphologic and functional characterization of granulocytes and macrophages in embryonic and adult zebrafish. *Blood*, 98, 3087-3096.

Mela, M., Randia, M., Venturab, D., Carvalho, C., Pelletierd, E. & Ribeiro, O. C., 2007. Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68, 426-435.

Meseguer, J., Esteban, M., Garcia, A. & Lopez, R., 1990. Granulopoiesis in the head-kidney of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): an ultrastructural study. *Archives of Histology and Cytology*, 53(3), 287-296.

Meseguer, J., Esteban, M. & Aqulleiro, B., 1991. Stromal cells, macrophages and lymphoid cells in the head-kidney of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). An ultrastructural study. *Archives of Histology and Cytology*, 54(3), 299-309.

Nakajima, M. & Taniguchi, N., 2001, Genetics of the guppy as a model for experiment in aquaculture. *Genetica*, 111, 279-289.

Peters, G. & Schwarzer, R., 1985. Changes in hemopoietic tissue of rainbow trout under influence of stress. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1, 1-10.

Qian, F., Zhen, F., Xu, J., Huang, M., Li, W., & Wen, Z., 2007. Distinct functions for different scl isoforms in zebrafish primitive and definitive hematopoiesis. *PLoS Biology*, 5(5), e132. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050132>

Reimschuessel, R., 2001. A fish model of renal regeneration and development. *ILAR Journal*, 42(4), 285-291.

Reznick, D., Buckwalter, Buckwalter, G., Groff, J. & Elder, D., 2001. The evolution of senescence in natural populations of guppies (*Poecilia reticulata*): a comparative approach. *Experimental Gerontology*, 36, 791-812.

Robertson, A. L., Avagyan, S., Gansner, J. M., & Zon, L. 2017. Understanding the regulation of vertebrate hematopoiesis and blood disorders: big lessons from a small fish. *FEBS Letters*, 590(22), 4016-4033.

Romano, N., 1998. Ontogeny of the immune system of fish using specific markers. *Ph. D. Thesis*, Wageningen University & Research Centre, Wageningen, 168pp. <http://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/41278>. Erişim Tarihi: 29.08.2018.

Romano, N., Ceccariglia, S., Mastrolia, L. & Mazzini, M., 2002. Cytology of lymphomyeloid head kidney of Antarctic fishes *Trematomus bernacchii* (Nototheniidae) and *Chionodraco hamatus* (Channichthyidae). *Tissue and Cell*, 34, 63-72.

Roy, U. S., Aich, A., Chattopadhyay, B., Datta, S. & Mukhopadhyay, S. K., 2013, Studies on the toxicity of composite tannery effluent using guppy (*Poecilia reticulata*) as a fish model. *Environmental Engineering and Management Journal*, 12(3), 557-563.

Santos, N. M., Romano, N., Sousa, M., Ellis, A. E. & Rombout, J. H., 2000. Ontogeny of B and T cells in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 10, 583-596.

- Scapigliati, G., Romano, N. & Abelli, L., 1999. Monoclonal antibodies in fish immunology: identification, ontogeny and activity of T- and B-lymphocytes. *Aquaculture*, 172, 3-28.
- Scharsack, J. P., Steinhagen, D., Kleczka, C., Schmidt, J. O., Körting, W., Michael, R. D., Leibold, W. & Schuberth, H. J., 2003. Head kidney neutrophils of carp (*Cyprinus carpio* L.) are functionally modulated by the haemoflagellate *Trypanoplasma borreli*. *Fish and Shellfish Immunology*, 14, 389-403.
- Shaddock, P., 2009. The see-thru guppy: a transparent fish model. *AAFL Bioflux*, 2(2), 137-145.
- Song, H. D., Sun, X. J., Deng, M., Zhang, G. W., Zhou, Y., Wu, X. Y., Sheng, Y., Chen, Y., Ruan, Z., Jiang, C. L., Fan, H. Y., Zou, L. L., Kanki, J. P., Liu, T. X., Look, A. T. & Chen, Z., 2004. Hematopoietic gene expression profile in zebrafish kidney marrow. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(46), 16240-16245.
- Soza-Ried, C., Hess, I., Netuschil, N., Schorpp, M. & Boehm, T., 2010. Essential role of c-myb in definitive hematopoiesis is evolutionarily conserved. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(40), 17304-17308.
- Stenvika, J., Schrødera, M., Olsena, K., Zapata, A. & Jørgensen, T., 2001. Expression of immunoglobulin heavy chain transcripts (VH-families, IgM, and IgD) in head kidney and spleen of the Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Developmental and Comparative Immunology*, 25, 291-302.
- Sunyer, J., 2012. Evolutionary and functional relationships of b cells from fish and mammals: insights into their novel roles in phagocytosis and presentation of particulate antigen. *Infectious Disorders Drug Targets*, 12(3), 200-212.
- Travares-Dias, M., 2006. A morphological and cytochemical study of erythrocytes, thrombocytes and leukocytes in four freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology*, 68, 1822-1833.
- Wlasow, T. & Dabrowska, H., 1989. Cellular changes in the blood and haemopoietic tissues of common carp exposed to sublethal concentration of ammonia. *Aquatic Living Resources*, 2, 169-174.
- Zapata, A., Diez, B., Cejalvo, T., Frias, C.D. & Cortes, A., 2006. Ontogeny of the immune system of fish. *Fish and Shellfish Immunology*, 20, 126-136.
- Zuasti, A. & Ferrer, C., 1989. Haemopoiesis in the head kidney of *Sparus auratus*. *Archives of Histology and Cytology*, 52, 249-255.
- Zwollo, P., 2011. Dissecting teleost B cell differentiation using transcription factors. *Developmental and Comparative Immunology*, 35, 898-905.
- Zwollo, P., Cole, S., Bromage, E. & Kaattari, S., 2005. B cell heterogeneity in the teleost kidney: evidence for a maturation gradient from anterior to posterior kidney. *The Journal of Immunology*, 174, 6608-6616.