14(4) 187-192, Winter 2023

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Use of monohydrate dextrose in zebrafish (*Danio rerio*) as a model to induce hyperglycemia

Houriyeh Moghadam [1], Iman Sourinejad [1*], Mohammad Reza Kalbassi [2], Seyed Ali Johari [3], Zahra Ghasemi [1]

[1] *Department of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran*
[2] *Department of Fisheries, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran*
[3] *Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran*

Key Words

Diabetes
Dextrose
Glucose
Zebrafish

Abstract

Introduction: The aim of the present study was to establish hyperglycemia in zebrafish (*Danio rerio*) using dextrose monohydrate as a suitable and inexpensive alternative to glucose in the diabetic process.

Materials & Methods: A number of 90 adult fish with an average weight of 316.38 ± 53.74 mg were selected and after adaptation were subjected to different doses of dextrose monohydrate for 24 days in two treatments of diabetic and control treatments each with three replicates. Blood samples were taken at the beginning of the experiment and also on the seventh, sixteenth and twenty-fifth days after inducing hyperglycemia to check the glucose levels.

Results: Comparison of blood glucose levels between the diabetic and control treatments showed an increase in fasting blood glucose levels from 41.17 to 188.67 after immersion in dextrose solution for 24 days. Also in glucose tolerance test in diabetic treatment, glucose level remained above 600 mg/dl after 90 minutes.

Conclusion: In general, the results showed that the use of dextrose in a gradual manner causes hyperglycemia and this method can be used to induce type 2 diabetes.

* Corresponding Author's email: sourinejad@hormozgan.ac.ir
Received: 29 September 2021; Reviewed: 30 October 2021; Revised: 3o December 2021; Accepted: 31 January 2022
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.326693.2745

مقاله پژوهشی

استفاده از دکستروز مونوهیدرات جهت القای هایپرگلایسمی در ماهی مدل زبرا (*Danio rerio*)

حوریه مقدم[۱]، ایمان سوری‌نژاد[۱*]، محمدرضا کلباسی[۲]، سیّدعلی جوهری[۳]، زهرا قاسمی[۱]

[۱] گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

[۲] گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

[۳] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

کلمات کلیدی

دیابت
دکستروز
گلوکز
ماهی زبرا

چکیده

مقدمه: هدف ازمطالعه‌حاضر، ایجادهایپرگلایسمی‌در ماهی زبرا (*Danio rerio*) با استفاده از دکستروز مونوهیدرات به‌عنوان یک جایگزین مناسب و ارزان برای گلوکز در فرایند دیابتی کردن است.

مواد و روش: تعداد ۹۰ قطعه ماهی بالغ با میانگین وزنی ۳۱٦/۳۸±۵۳/۷٤ میلی‌گرم انتخاب و در قالب دو تیمار یا سه تکرار: تیمار دیابتی و تیمار شاهد، بعد از آداپتاسیون به‌مدت ۲٤ روز تحت دوزهای مختلف دکستروزمونوهیدارت به‌صورت پلکانی قرار گرفتند. بیش از شروع آزمایش و هم‌چنین در روزهای هفتم، شانزدهم و بیست و پنجم خونگیری‌جهت بررسی سطح گلوکز به‌منظور القای‌هیپرگلایسمی انجام‌شد.

نتایج: مقایسه سطوح گلوکز بین تیمار دیابتی و شاهد بر سطح گلوکز خون ماهی زبرا نشان‌دهنده افزایش سطح گلوکز خون ناشتا از ٤۱/۱۷ به ۱۸۸/٦۷ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بعد از غوطه‌وری به‌مدت ۲٤ روز در محلول دکستروز است. هم‌چنین در تست تحمل گلوکز در تیمار دیابتی سطح گلوکز بعد از ۹۰ دقیقه در سطح بالاتر از ٦۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر باقی ماند.

نتیجه‌گیری و بحث: به‌طورکلی نتایج نشان می‌دهد که استفاده از دکستروز به‌صورت پلکانی باعث ایجاد هایپرگلایسمی می‌شود و می‌توان از این روش جهت القای دیابت نوع دوم استفاده نمود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: sourinejad@hormozgan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۷ مهر ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۸ آبان ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۹ دی ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۱ بهمن ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.326693.2745

مقدمه

ماهی زبرا (*Danio rerio*) یک ماهی کوچک آب شیرین از رودخانه‌های هند است و استفاده از آن به‌عنوان یک ماهی آکواریومی در سراسر جهان رواج دارد. نگه‌داری از زبرا در آکواریوم آسان است و استفاده از آن به‌عنوان یک ارگانیسم مدل برای تحقیقات بیولوژیکی مدرن با کار جورج استرازینگر و همکارانش آغاز شد (۱). این ماهی در ۴۰ سال گذشته به یک موجود مدل محبوب برای تحقیقات در زمینه ژنتیک مهره‌داران، تکوین، بازسازی و سم‌شناسی تبدیل شده است (۲). بسیاری از بیماری‌های انسانی در طیف وسیعی از آسیب شناسی‌های انسانی ازجمله اختلالات ژنتیکی و بیماری‌های اکتسابی در ماهی زبرا به‌عنوان مدل ایجاد شده‌اند (۳). چندین ویژگی کلیدی منجر به گسترش این گونه به‌عنوان یک ماهی مدل شده است که شامل زمان تولیدمثل کوتاه آن، تعداد زیادی تخمک تولید شده در هر جفت‌گیری، خارجی بودن لقاح، در دسترس بودن تکنولوژی همه مراحل رشد، اندازه کوچک، سهولت دستکاری، پایین بودن هزینه‌های نگه‌داری و دستکاری ژنتیکی آسان آن می‌باشد (۱، ۳، ۴، ۵). ازجمله بیماری‌های اکتسابی انسانی که در سال‌های اخیر مطالعات بسیاری روی آن انجام شده و در حال انجام است می‌توان به دیابت اشاره کرد. دیابت شیرین (DM) احتمالاً تا سال ۲۰۳۰ بیش از ۴۰۰ میلیون نفر را در سراسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد. دیابت از بیماری‌های متابولیکی است که با هایپرگلیسمی مزمن مشخص می‌شود. این بیماری که به‌دلیل ترشح یا عملکرد کم انسولین رخ می‌دهد منجر به دو بیماری متمایز به نام‌های دیابت نوع یک (DM1) و نوع دوم (DM2) می‌شود. در دیابت نوع یک توانایی تولید انسولین مختل می‌شود، در حالی که در دیابت نوع دوم توانایی بدن برای پاسخ به انسولین دچار اختلال می‌شود (۶، ۷، ۸). هایپرگلیسمی در DM2 ناشی از ناتوانی انسولین در کنترل گلوکونئوژنز است (۹). زمانی‌که گلوکز در رژیم غذایی موجود باشد، انسولین توسط پانکراس تولید می‌شود. انسولین با اثر تحریکی بر آنزیم کلیدی مسیر گلیکولیز، یعنی گلوکوکیناز و مکانیسم کنترل منفی بر مسیر گلوکونئوژنز و آنزیم کلیدی آن فسفوانول پیروات کربوکسیکیناز، باعث افزایش گلیکولیز و مهار گلوکونئوژنز در بافت‌ها و کاهش قندخون می‌شود. در غیاب گلوکز در جریان خون، گلوکونئوژنز با عمل گلوکاگون القا می‌شود. انسولین و گلوکاگون به ترتیب در سلول‌های β و سلول‌های α پانکراس تولید می‌شوند (۱۰). دیابت با استفاده از روش‌های شیمیایی، ژنتیکی، هورمونی، آنتی‌بادی، ویروسی و جراحی یا ترکیبی از آن‌ها در حیوانات مدل ایجاد شده است. برای دیابتی کردن ماهی زبرا روش‌های متفاوتی توسط پژوهشگران مختلف استفاده شده است. روش غوطه‌وری در محلول گلوکز ۲٪ به مدت یک ماه، محلول ۱۱۰ میلی‌مولار گلوکز دو هفته یا ۴٪ گلوکز ۲۸ روز (۶، ۷، ۱۱)، استفاده از غذای چرب بیش از نیاز بدن به چربی برای القای دیابت به‌صورت طولانی‌مدت (۱۲، ۱۳) و داروهایی مانند آلوکسان و استروپتوزوتوسین، که سلول‌های بتای پانکراس را تخریب می‌کنند و بیش‌تر به دیابت نوع ۱ شباهت دارند (۱۴). مدل سازی حیوانی هنوز هم یک پلتفرم مهم برای مطالعه بیماری‌ها و درمان آن‌هاست. در کنار توسعه ابزارهای جدید برای دستکاری ژنتیکی و القای بیماری، مدل‌های به‌کار رفته دارای معایب و مزایای منحصر به فرد خود می‌باشند. برخی به لحاظ هزینه و برخی به لحاظ زمانی و برخی به لحاظ تلفات حین فرایند دیابتی کردن ممکن است در شرایطی خاص قابل اجرا نباشند. لذا در این مطالعه سعی شده است روشی مقرون به صرفه و ایمن و در دسترس با در نظر گرفتن توان بوم‌شناختی و فیزیولوژیک این گونه جهت دیابتی کردن ماهی زبرا طراحی شود که بتواند در کنار روش‌های دیگر در صورت نیاز مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه از دکستروز مونوهیدرات به‌جای گلوکز جهت ایجاد محلول گلوکز برای غوطه‌وری استفاده شده‌است. دکستروز مونوهیدرات شکل مونوهیدرات D-گلوکز، یک مونوساکارید و کربوهیدرات طبیعی است. دکستروز و گلوکز فرمول شیمیایی یکسانی دارند، به این معنی که گلوکز و دکستروز دارای ۶ اتم کربن‌اند که به ۱۲ اتم هیدروژن متصل می‌شوند و بیش‌تر با ۶ اتم اکسیژن دیگر محدود می‌شوند. تفاوت این دو در آن است که گلوکز یک آلدوهگزوز است در حالی که دکستروز نامی است که به یک ترکیب گلوکز مونوهیدرات داده شده است. آلدوهگزوز ترکیباتی به نام آلدئید دارد که در موقعیت برتر مولکول قرار می‌گیرند. آلدئیدها به‌صورت یک اتم کربن متصل به یک اتم هیدروژن و در طرف دیگر، دو بار به اتم اکسیژن دیگر متصل می‌شوند. بنابراین، دکستروز و گلوکز آرایش اتمی متفاوتی در فضا دارند (۱۵). با توجه به موارد ذکر شده عملکرد مشابهی در فرایند دیابتی نمودن از این دو ماده انتظار می‌رود. البته با این تفاوت که دکستروز بسیار ارزان‌تر و دردسترس‌تر نسبت به گلوکز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش: در مطالعه حاضر ۹۰ قطعه ماهی زبرا (*Danio rerio*) بزرگ‌سال با میانگین وزنی ۵۳/۷۴±۳۱۶/۳۸ میلی‌گرم تهیه گردید. ماهیان زبرا به‌مدت ۱۰ روز جهت سازش در شرایط آزمایشگاهی درون آکواریوم ۵۰ لیتری نگه‌داری شدند. ماهیان در قالب دو تیمار (تیمار ۱ تحت فرآیند دیابتی و تیمار ۲ به‌عنوان شاهد) با سه تکرار در آکواریوم‌های ۵ لیتری با تراکم ۱۵ قطعه در هر آکواریوم با نسبت جنسی برابر ذخیره‌سازی شدند. آب‌شیرین از طریق اکسیژن‌دهی

کلرزدایی شده با دمای ۲۴/۵ درجه سانتی‌گراد همراه با هوادهی و تعویض آب یک‌روز در میان برای هر آکواریوم استفاده گردید. برای تغذیه از غذای پلت ۰/۵ میلی‌متر شرکت بیومار (پروتئین ۵۸٪، چربی ۱۵٪، کربوهیدرات ۶/۶٪ و خاکستر ۱۱/۳٪) در طول دوره به میزان ۳ درصد وزن بدن (در دو وعده صبح و عصر) استفاده شد. در تمام مراحل آزمایشات، موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید (۱۶).

روش دیابتی کردن: بعد از ۴۸ ساعت ذخیره‌سازی در آکواریوم‌های ۵ لیتری فرایند دیابتی طی ۲۴ روز صورت گرفت. جهت پروسه دیابتی کردن از روش غوطه‌وری ساکن با محلول دکستروز مونوهیدرات شرکت FIC کشور چین با گرید خوراکی به‌شرح جدول ۱ استفاده شد.

جدول ۱: دوزهای مصرفی دکستروز مونوهیدرات در طی ۲۴ روز به ترتیب و میزان تلفات در طی پروسه دیابتی کردن

دوز مصرفی (درصد)	تعداد روز	تلفات جنس ماده	تلفات جنس نر
۰/۵	۳	۰	۰
۱	۳	۰	۰
۱/۵	۳	۰	۰
۲	۶	۰	۰
۲/۵	۳	۰	۱
۳	۶	۳	۰

سنجش قند خون: جهت سنجش قند خون از دستگاه قندن خون اینفوپنیا مدل ایزی گلوکو استفاده گردید. قبل از شروع پروسه دیابتی کردن و هم‌چنین در روزهای هفتم، شانزدهم و بیست و پنجم پروسه دیابتی کردن پس از تکمیل دوره مصرفی هر دوز از ماهیان بعد از قطع غذادهی به‌مدت ۱۲ ساعت و پس از بی‌هوش کردن با پودر گل میخک با قطع ساقه دمی خونگیری انجام گردید. هم‌چنین میزان تلفات طی دوره نیز ثبت گردید. در پایان پروسه دیابتی کردن تست تحمل گلوکز با تزریق ۱۰ میکرولیتر (۰/۵ میلی‌گرم گلوکز به ازای هر گرم ماهی) محلول گلوکز در حفره شکمی ۹ قطعه ماهی پس از بی‌هوشی انجام شد و بعداز مرحله بهبودی اثر بی‌هوشی، تست گلوکز در فواصل زمانی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق انجام گرفت. در هر مرحله از سه قطعه ماهی تست گلوکز انجام گردید (۱۲).

روش آماری: جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولوموگروف-اسمیرنوف استفاده گردید. سپس از آزمون آماری One Way ANOVA و آزمون دانکن در سطح اعتماد ۹۵ درصد، جهت مقایسه میانگین‌ها و از نرم‌افزار SPSS(26) برای آنالیز آماری استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین± انحراف معیار بیان شدند.

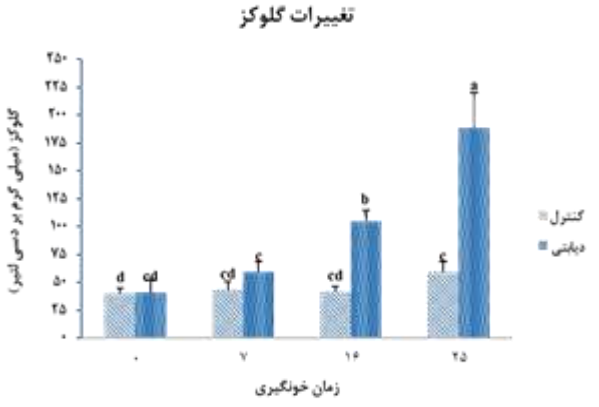
نتایج

تغییرات گلوکز و میزان بقاء: جهت بررسی سطوح گلوکز، در بازه‌های زمانی قبل دیابتی کردن (زمان صفر) و در روز هفتم (تکمیل دوز ۱ درصد)، روز شانزدهم (تکمیل دوز دو درصد) و روز بیست و پنجم (تکمیل دوز ۳ درصد) از شش قطعه ماهی از هر تیمار خونگیری گردید. نتایج افزایش معنی‌دار سطح گلوکز (mg/dl ۱۰۴/۶۷) را در گروه دیابتی از روز شانزدهم نشان می‌دهد (P<۰/۰۵). هم‌چنین بالاترین سطح گلوکز (ng/dl ۱۸۸/۶۷) در تیمار دیابتی در روز بیست و پنجم مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۱). هم‌چنین در تیمار دیابتی تنها ۸/۸۸٪ تلفات دیده شد (شکل ۲) که ۶/۶۶٪ درصد آن جنس نر و ۲/۲۲٪ مربوط به جنس ماده بود (جدول ۱).

تست تحمل گلوکز: نتایج تحمل گلوکز نشان‌دهنده کاهش و برگشت مقادیر گلوکز بعد از ۹۰ دقیقه به مقادیر اولیه در گروه شاهد و افزایش بدون برگشت گلوکز در گروه دیابتی می‌باشد (جدول ۲).

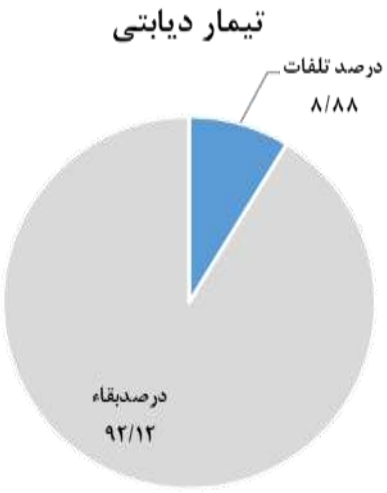
جدول ۲: تغییرات سطح گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بعد از تزریق محلول گلوکز در گروه دیابتی و گروه شاهد

	بعد از ۳۰ دقیقه	بعد از ۶۰ دقیقه	بعد از ۹۰ دقیقه
شاهد	۳۱۰	۱۷۸	۷۷
	۲۳۵	۱۴۴	۹۵
	۲۵۰	۱۱۵	۸۱
دیابتی	بالاتر از ۶۰۰	۶۰۰	۴۳۰
	۵۸۰	بالاتر از ۶۰۰	بالاتر از ۶۰۰
	بالاتر از ۶۰۰	بالاتر از ۶۰۰	۶۰۰



شکل ۱: نمودار تغییرات سطح گلوکز در گروه دیابتی و گلوکز در بازه زمانی قبل دیابتی کردن (۰) و بعد دیابتی کردن (۷،۱۶ و ۲۵ روز بعد از شروع پروسه دیابتی کردن)

مقادیر به‌صورت میانگین±خطای استاندارد بیان شده است. تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی با حروف انگلیسی نشان داده شده است (P<۰/۰۵).



شکل ۲: نمودار میزان تلفات و بقاء در تیمار دیابتی (هایپرگلایسمی با دکستروز). تیمار شاهد فاقد تلفات

بحث

ماهی زبرای بالغ به‌دلیل توانایی تنظیم فشار اسمزی و غلظت کل املاح به‌راحتی مولکول‌های آب را جذب می‌کند (۱۷). آن‌ها به صورت هایپراسموتیک عمل می‌کنند و دارای یک استراتژی تنظیم اسمزی هستند که شامل افزایش مداوم آب در نتیجه غلظت داخلی بالاتر نمک درمقایسه با محیط آب‌شیرین آن‌ها می‌شود. هجوم مداوم آب منجر به جذب مولکول‌ها از محیط آن‌ها می‌گردد. به این ترتیب، هایپرگلیسمی با غوطه‌ور کردن ماهی زبرا در محلول گلوکز توسط محققین پیشنهاد شده است (۶). طی بررسی‌های انجام شده در مطالعات مختلف (۶، ۱۱، ۱۸) عمدتاً از گلوکز جهت غوطه‌وری استفاده گردیده است. در این مطالعه از دکستروز مونوهیدرات به‌عنوان ترکیب مشابه با گلوکز که بسیار ارزان‌تر بوده استفاده گردید. نتایج حاصل از تست تحمل گلوکز موید عملکرد درست در فرایند ایجاد ماهی زبرای دیابتی با دکستروز می‌باشد، زیرا در تیمار شاهد، سطح گلوکز خوت به مقادیر اولیه بازگشت اما در تیمار دیابتی این برگشت مشاهده نگردید. آزمایش‌های تحمل گلوکز اغلب برای بررسی عملکرد سلول‌های بتا استفاده می‌شود و می‌تواند به شناسایی اختلال تحمل گلوکز کمک کند که به‌طورکلی به‌عنوان یک حالت پیش دیابتی در نظر گرفته می‌شود. در موش‌های غیردیابتی عادی، گلوکز در ۱۵ تا ۳۰ دقیقه به اوج خود می‌رسد و تا ۱۲۰ دقیقه، گلوکز خون باید نزدیک به مقدار پایه باشد (۱۹). Zang و همکاران، نیز گزارش کردند که ۳۰ دقیقه بعد از تزریق گلوکز سطح گلوکز در ماهی زبرا افزایش داشته و بعد از ۹۰ دقیقه کاهش را نشان داده و در نهایت بعد از ۱۸۰ دقیقه به‌مقادیر اولیه خود بازگشته است (۱۲). هنگام آزمایشِ روش‌های درمانی در مدل‌های حیوانی دیابت، رایج‌ترین نقطه پایانی اندازه‌گیری غلظت گلوکز خون است. سطح گلوکز معمولاً روشی برای ارزیابی عملکرد سلول‌های b است. لازم به ذکر است که گونه‌های مختلف غلظت گلوکز خون متفاوتی نسبت به انسان دارند و بنابراین تعاریف دیابت در انسان لزوماً نباید در مورد حیوانات اعمال شود (۲۰، ۱۹) تنها مطالعه کار شده جهت انجام فرایند دیابتی کردن با دکستروز مونوهیدرات، Carnovali و همکاران می‌باشد که از دوزهای ۲، ۳، ۴ و ۵ درصد برای القای هایپرگلایسمی در ماهی زبرا به‌مدت ۲۸ روز استفاده نمودند (۷). مرگ و میر صد درصد در ۵ درصد و افزایش مرگ و میر ماده‌ها در دوز ۳ و ۴ درصد را مشاهده نمود و در نهایت با توجه به تغییرات گلوکز دوز چهار درصد برای پروسه دیابتی را استفاده نمودند. با توجه به نتایج به‌دست آماده از این مطالعه دوز بالا برای آزمایش حاضر ۳ درصد در نظر گرفته شد و جهت کاهش استرس و تلفات افزایش سطح گلوکز به‌صورت پلکانی انجام شد. نتایج نشان‌دهنده موثر بودن دوز انتخابی و هم‌چنین کاهش مرگ و میر در تیمار دیابتی بود. درصد تلفات در جنس نر و ماده در این مطالعه با گزارش Carnovali و همکاران، مبنی بر حساسیت بیش‌تر جنس ماده نسبت به نر و مرگ و میر بالاتر حتی در دوز پایین‌تر در فرایند هایپرگلایسمی (۷) مطابقت دارد. هم‌چنین روند تغییرات سطح گلوکز نیز مشابه نتایج حاصل از پروسه دیابتی کردن ماهی زبرا با محلول گلوکز در چندین مطالعه قبلی بود (۶، ۱۸). به‌طورکلی یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که دکستروز یک گزینه مناسب و غیرتهاجمی برای ایجاد هایپرگلایسمی و القاء دیابت نوع دوم در ماهی زبرا می‌باشد و با افزایش مرحله به مرحله دوز محلول و در نتیجه کاهش استرس جهت غوطه‌وری می‌توان از تلفات بالا جلوگیری نمود.

منابع

1. **Briggs, J.P., 2002.** The zebrafish: a new model organism for integrative physiology. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 282(1): 3-9. Available from:https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpregu.00589.2001.

2. **Mohammadi, H., Manouchehri, H., Changizi, R., Bootorabi, F. and Khorramizade, M., 2021.** Evaluation of the effects of metformin and silybinin as polyphenols using the zebrafish (*Danio rerio*) diabetic model. Journal of

Animal Environment. 10.22034/AEJ.2020.249245.2358. (In Persian)

3. **Intine, R.V., Olsen, A.S. and Sarras, M.P., 2013.** A Zebrafish Model of Diabetes Mellitus and Metabolic Memory. Journal of Visualized Experiments. 28(72). Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3622110.

4. **Meyers, J.R., 2018.** Zebrafish: Development of a Vertebrate Model Organism. Current Protocols Essential Laboratory Techniques. 16(1): e19. Available from: https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cpet.19.

5. **Salehpour, A., Rezaei, M., Khoradmehr, A., Tahamtani, Y. and Tamadon, A., 2021.** Which Hyperglycemic Model of Zebrafish (*Danio rerio*) Suites My Type 2 Diabetes Mellitus Research? A Scoring System for Available Methods. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 9 p. Avalable from: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2021.652061/full.

6. **Capiotti, K.M., Antonioli, R., Kist, L.W., Bogo, M.R., Bonan, C.D. and Da Silva, R.S., 2014.** Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. 171: 58-65. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096495914000359.

7. **Carnovali, M., Luzi, L., Banfi, G. and Mariotti, M., 2016.** Chronic hyperglycemia affects bone metabolism in adult zebrafish scale model. Endocrine. 54(3): 808-817. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s12020-016-1106-3.

8. **Sarras, Jr M.P., 2018.** Genetic and chemically-induced Zebrafish models for the study of diabetes mellitus. MOJ Anatomy & Physiology. 5(5). Available from: https://medcraveonline.com/MOJAP/genetic and chemically induced zebrafish models for the study of diabetes-mellitus.html.

9. **Stumvoll, M., Goldstein, B.J., van Haeften, T.W., 2005.** Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. The Lancet. 365(9467): 1333-1346. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014067360561032X.

10. **Elo, B., Villano, C.M., Govorko, D. and White, L.A., 2007.** Larval zebrafish as a model for glucose metabolism: expression of phosphoenolpyruvate carboxykinase as a marker for exposure to anti-diabetic compounds. Journal of Molecular Endocrinology. 38(4): 433-440. Available from: https://jme.bioscientifica.com/view/journals/jme/38/4/038043 3.xml.

11. **Gleeson, M., Connaughton, V. and Arneson, L.S., 2007.** Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*Danio rerio*) leads to morphological changes in the retina. Acta Diabetologica. 44(3): 157-163. Available from: https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00592-007-0257-3.pdf.

12. **Zang, L., Shimada, Y. and Nishimura, N., 2017.** Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus. Scientific Reports. 7(1). Available from: https://www.nature.com/articles/s41598-017-01432-w.

13. **Meng, X.H., Chen, B. and Zhang, J.P., 2017.** Intracellular Insulin and Impaired Autophagy in a Zebrafish model and a Cell Model of Type 2 diabetes. International Journal of Biological Sciences. 13(8): 985-995. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5599904.

14. **Fatemi Tabatabaei, S., Moori Bakhtiari, N., Malekian, A., Karimian, A., Ivani, S., Noori, M., Ashkiani, P. and Naghashpoor, F., 2013.** Induction of Experimental Type 2 Diabetes Using Olive and Rump Oils in Rat. Iranian Journal of Endocrinology & Metabolism. 15(2): 172-184.

15. **National Center for Biotechnology Information. 2022.** PubChem Compound Summary for CID 22814120, Dextrose monohydrate. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dextrose-monohydrate.

16. **Mobasher, M., Aramesh, K., Aldavoud, S.J., Ashrafganjooei, N., Divsalar, K. and Phillips, C.J.C., 2008.** Proposing a National Ethical Framework for Animal Research in Iran. Iranian J Publ. 37(1): 39-46. (In Persian)

17. **Moyle, P.B. and Cech, J.J., 2000.** Fishes: an introduction to ichthyology.

18. **Mohammadi, H., Manouchehri, H., Changizi, R., Bootorabi, F. and Khorramizadeh, M.R., 2020.** Concurrent metformin and silibinin therapy in diabetes: assessments in zebrafish (*Danio rerio*) animal model. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders. Oct 25;19(2):1233–44. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s40200-020-00637-7.

19. **Kiapour, F., Shabani, A. and Safari, R., 2021.** Effects of exposure to endosulfan subcutaneous doses on serum biochemical factors in (*Danio rerio*). Journal of Animal Environment. 10.22034/AEJ.2021.134048. 13(1): 363-370. (In Persian)

20. **Eames, S.C., Philipson, L.H., Prince, V.E. and Kinkel, M.D., 2010.** Blood Sugar Measurement in Zebrafish Reveals Dynamics of Glucose Homeostasis. Zebrafish. 7(2): 205-213. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/zeb.2009.0640.