

鱼类神经行为毒性研究进展

李姝伸^{1,2} 赵芷源^{1,2} 隋长润^{1,2} 纪美旭^{1,2} 逢越^{1,2} 李庆伟^{1,2} 李军^{1,2}

(1. 辽宁师范大学生命科学学院, 七鳃鳗研究中心, 大连 116081; 2. 大连工业大学, 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 大连 116034)

摘要: 神经行为毒性是神经科学、神经药理学和神经毒理学的重要研究内容, 对评价生态系统质量和研究有害因素或药物在生物神经系统作用机制具有重要理论和应用价值。鱼类中枢神经系统发达, 对水环境中化合物极为敏感, 其神经系统能够对各种刺激产生综合协调的应答反应, 影响其运动功能、应激反应以及学习/记忆, 改变游泳行为和社会行为, 产生神经行为异常, 诱发神经行为毒性效应。近年来, 许多研究者开展了一系列以鱼类为受试对象的神经行为毒性研究, 表明鱼类是开展神经行为毒性研究的重要物种, 其成果在生态环境监测和评价、渔业生产、神经系统机制探究及药物开发等方面得到了广泛应用。鱼类作为神经行为毒性研究的物种, 补充经典哺乳动物模型的不足, 提供了高通量体外细胞分析和经典哺乳动物模型之间的关键模型。文章从鱼类生物学特征、实验鱼类品系和全基因组测序3个方面阐明鱼类是开展神经行为毒性研究的重要物种, 综述了微塑料及其吸附污染物、有机污染物2类典型污染物和酒精、咖啡因、苯二氮卓类药物、选择性血清素再吸收抑制剂4类药物对鱼类的游泳行为和社会行为影响, 探讨鱼类产生剂量或时间依赖性的神经行为毒性效应, 并对未来研究方向进行了分析展望, 以期对神经行为毒性研究和应用提供参考依据。

关键词: 神经行为毒性; 污染物; 药物; 鱼类

中图分类号: X171.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)02-0355-10



神经行为毒性是有害因素对动物神经系统和神经行为产生有害作用的能力, 反映外界有害因素对生物个体整体水平健康危害程度, 是一种非死亡的有害效应。神经行为毒性主要研究暴露于有害环境因素后, 神经行为改变的类型及神经行为改变的生物学基础, 是神经科学、药理学和毒理学的重要内容^[1,2]。近年来, 随着人类活动的加剧, 大量有害物质通过陆源和空源等途径吸附和络合在富含有机物和营养盐的水环境中。鱼类对水环境中污染物极为敏感, 即使极低浓度的污染物暴露也能对鱼类的游泳行为产生影响, 致使其神经行为异常, 诱发神经行为毒性效应^[3-6]。在神经科学研究和药

物开发中, 鱼类是开展神经科学、药理学和毒理学等研究的重要物种。鱼类组织和器官与哺乳动物同源^[7], 其中枢神经系统的作用机制与哺乳动物相似^[8,9], 能够对外界刺激产生综合协调的应答反应, 其复杂、典型的行为特征与哺乳动物类似^[10], 包括感觉和运动的神经反射及信息整合等行为表现, 为探讨神经系统结构和功能及人类疾病研究提供参考。本文从鱼类生物学特征、实验鱼类品系和全基因组测序3个方面阐明鱼类是开展神经行为毒性研究的重要物种, 并结合广泛存在的典型污染物(微塑料、微塑料吸附污染物和有机污染物)和药物, 探讨外界因素对鱼类产生的神经行为毒性, 展

收稿日期: 2021-11-10; **修订日期:** 2022-04-13

基金项目: 国家自然科学基金(31772884和32070518); 辽宁省兴辽英才计划领军人才(XLYC2002093); 辽宁省科技项目(2019-MS-218); 辽宁省教育厅项目(LJKZ096和LJ2020012); 大连市科技创新基金(2018J12SN079); 辽宁师范大学新进博士科研启动项目(BS2020L005)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31772884 and 32070518); Liaoning Climbing Scholar, the Distinguished Professor of Liaoning (XLYC2002093); the Program of Science and Technology of Liaoning Province (2019-MS-218); the Project of the Educational Department of Liaoning Province (LJKZ096 and LJ2020012); the Science and Technology Innovation Fund Research Project of Dalian City (2018J12SN079); the Doctor Scientific Research Starting Foundation of Liaoning Normal University (BS2020L005)]

作者简介: 李姝伸(1995—), 男, 助理工程师; 主要研究方向为实验动物学。E-mail: lss3056786@126.com

通信作者: 李军(1975—), 男, 副教授; 主要研究方向为实验动物学。E-mail: lj_nwafu@163.com

望今后鱼类神经行为毒性的研究方向, 以期为神经行为毒性基础研究和应用提供参考依据。

1 鱼类是开展神经行为毒性研究的重要物种

鱼类是开展神经行为毒性研究的生物模型, 具有独特的优势: (1) 鱼类生物学特征是开展神经行为毒性研究的重要基础。鱼类组织和器官与哺乳动物同源, 发育过程和调控机制高度保守^[7]。特别重要的是, 鱼类神经元的形成、分化及神经化学信号通路等与哺乳动物相似性高^[11, 12], 能对外界刺激产生综合协调的应答反应。如在有害环境中, 鱼类游泳速度、游动距离、游动时间和绝对转角等行为发生改变, 影响社交、焦虑、学习和记忆及防御能力等社会行为^[13-17]。(2) 实验鱼为开展神经行为毒性研究提供材料。实验鱼具有遗传背景均一、实验重复性好、可比性强等优点, 是研究神经行为毒性的主要实验动物。目前研究人员已开发出3000多个斑马鱼品系和200多个转基因品系(野生型品系除外)。实验鱼品系众多, 其中实验鱼类有青鳉(*Oryzias melastigma*)^[18]、虹鳉(*Poecilia reticulata*)^[19-21]、金鱼(*Carassius auratus*)^[22, 23]和虹鳟(*Salmo gairdneri*)^[24, 25]等; 鱼类近交品系有斑马鱼近交系(*Danio rerio*)^[26]、剑尾鱼近交系(*Xiphophorus helleri*)^[27]、*X. maculatus*^[27]和*X. xiphidium*^[27]和青鳉近交系(*O. latipes*)^[28, 29]等。(3) 鱼类全基因组测序为神经行为毒性研究提供重要的分子基础。鱼类的全基因组学研究阐明其生物学特征和基因组结构之间内在联系。目前, 国内外研究团队已经开展鱼类基因组学研究, 先后完成青鳉^[30]、红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)^[30]、绿河鲀(*Tetraodon nigroviridis*)^[30]、半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)^[31]和鲤(*Cyprinus carpio*)^[31]等100多种鱼类的全基因组测序并绘制精细图谱。

2 典型污染物对鱼类的神经行为毒性

鱼类对水环境中污染物的变化最为敏感, 即使极低浓度的污染物暴露也能对鱼类的行为产生影响, 引发神经行为毒性效应^[3-6, 32-42]。

2.1 微塑料及其吸附污染物

微塑料 微塑料(Microplastics, MPs)可在鱼类鳃、肠、肝脏、性腺和肠等器官富集, 甚至能通过血脑屏障, 进入脑组织^[43-46]。微塑料积累在鱼类不同组织和器官中, 抑制生长发育、降低免疫力、增加氧化应激和紊乱脂质代谢^[47-49], 产生神经行为毒性效应, 改变鱼类的游泳行为, 干扰鱼类社交行为^[3, 32, 34, 50, 51]。急性神经毒性研究表明, MPs对欧洲

鲈(*Dicentrarchus labrax*)幼鱼具有较强的急性神经毒性效应^[33], MPs (1—5 μm ; 0.26和0.69 mg/L; 96h)减少幼鱼逆水流游泳时间(5%—28%), 降低幼鱼游泳速度。在慢性神经毒性研究中, Yin等^[50]通过MPs暴露许氏平鲈(*Sebastes schlegelii*)慢性毒性试验证明, MPs暴露不但降低幼体游泳速度、减少探索行为, 而且MPs能强烈干扰幼鱼社交行为(幼体间距离更小)。Santos等^[3, 32]系统地开展了MPs对斑马鱼幼体的神经行为毒性研究, 急性暴露试验(2—96 hpf, hour post fertilization)证明MPs(1—5 μm , 2 mg/L)对幼鱼游泳行为和社交行为均没有影响; 但在长期慢性毒性研究中(2hpf—14dpf, day post fertilization)^[32], MPs对幼鱼的游泳距离、逃逸行为及社交行为(集群)有显著影响, 改变幼鱼的游泳行为和社交行为。这些研究表明微塑料可在鱼类体内蓄积, 产生长期的神经行为毒性效应。MPs不但对鱼类早期发育阶段产生神经行为毒性效应, 而且对成鱼也具有神经行为毒性作用。如斑马鱼成鱼暴露MPs(110和1100 粒/L)96h后, 斑马鱼出现游泳不稳定、癫痫样行为等症状^[34]。

与药浴方式的神经毒性效应不同, 通过口服MPs方式的试验表明, MPs (600 μm ; 0.01%、0.1%和1% W/W)在14d对青鳉幼鱼游泳速度没有影响, 而在30d幼鱼则表现出游泳速度显著增加现象^[52], 这可能与MPs在鱼类不同组织和器官中富集有关。鱼类摄入MPs的方式不同, 其在鱼类不同组织和器官中积累量不同, 产生不同的神经行为毒性效应。不同的环境条件, 如光-暗周期改变, 也是MPs影响鱼类神经行为的重要因素。Limonta等^[51]证明MPs暴露增加斑马鱼夜间活动, 改变昼夜活动节律, 这与MPs上调其昼夜节律基因*nr1d4b*相关。Qiang等^[53]证明在黑暗条件下的MPs暴露减小斑马鱼幼鱼(4—120hpf)的游泳距离(3.2%)和速度(3.5%), 而在光刺激下, MPs可致使幼鱼游泳距离减少(2.6%—4.6%), 游泳速度降低(2.8%—4.9%), 这可能是幼鱼避暗能力受到抑制的结果。

微塑料在生物体内的富集与分布规律主要取决于粒径, 如粒径为5—20 μm 微塑料可在鱼类鳃和肠道中富集, 而粒径为 $\leq 10 \mu\text{m}$ 微塑料可进入肝脏、性腺和肠道, 甚至可以通过血脑屏障, 进入脑部组织, 影响其脑部发育和功能, 引发神经行为毒性^[43-46]。Chen等^[54]研究mMPs (Micron-sized microplastics, 微米级微塑料)和nMPs (Nano-sized microplastics, 纳米级微塑料)对斑马鱼幼鱼游泳能力影响, 证明在黑暗环境中mMPs (45 μm)不会影响幼鱼游泳距离, 而nMPs(50 nm)显著抑制幼鱼游泳能

力, 其神经系统相关基因 *gfap* 和 *α1-tubulin* 转录水平上调, 乙酰胆碱酯酶 (*AchE*) 活性降低, 谷胱甘肽 (*GSH*) 含量减少, 证明 nMPs 潜在神经行为毒性更大。Yang 等^[55] 研究也表明, mMPs 不影响幼鱼游泳行为, 而 nMPs (100 和 1000 μg/L; 7 d) 则显著降低幼鱼游泳速度, 这与 nMPs 进入组织和器官, 破坏肌肉和神经纤维, 抑制 *AchE* 活性有关。与 Chen 等^[54] 和 Yang 等^[55] 研究结果不同, Yin 等^[50] 试验结果表明, mMPs 对鱼类神经行为毒性比 nMPs 更大, 如与 500 nm nMPs 暴露组许氏平鲈幼鱼相比, 15 μm MPs 暴露对幼鱼的社交行为具有更强烈的干扰, 表现为群体中个体间的距离小, 同时还观察到幼体游泳速度降低, 探索行为减少。研究者认为这与幼体脑百分比和脑的含水量增加有关。

微塑料及吸附重金属 MPs 具有体积小、比表面积大、疏水性强和表面电荷多等特性, 能够吸附和累积其他污染物^[56–58]。重金属作为一类重要的污染物质, 其毒性包括内分泌干扰、神经毒性、肝毒性、免疫毒性、遗传毒性和肾毒性等^[59]。MPs 与重金属之间存在协同作用, 对鱼类产生联合神经行为毒性, 增强神经行为毒性效应, 这与 MPs 和重金属下调 *sod1* 表达, 抑制 *AchE* 活性, 增加活性氧 (ROS)、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 活性相关^[3, 32]。Barboza 等^[33] 研究表明, MPs 及其吸附的汞对许氏平鲈游泳行为存在显著的相互作用, MPs 和汞联合暴露降低幼鱼的游泳速度 (80%—87%), 减少幼鱼逆流游泳时间 (52%—64%)。Santos 等^[3, 32] 开展了 MPs 和铜 (Cu) 对斑马鱼幼鱼的急性和慢性神经行为毒性研究。在短期急性毒性研究 (2—96 hpf)^[3] 中发现, Cu (15 和 60 μg/L) 与 Cu+MPs (Cu15+MPs, 15 μg Cu/L+2 mg MP/L; Cu60+MPs, 60 μg Cu/L+2 mg MP/L; Cu125+MPs, 125 μg Cu/L+2 mg MP/L) 均对幼鱼游泳行为没有影响; 高浓度 Cu (125 μg/L) 仅增加幼鱼总游泳距离, 而在 Cu125+MPs 暴露组中幼鱼的社交行为发生改变 (最近邻距离和个体间距离减小), 同时光暗刺激增加幼鱼在黑暗期游动距离, 表明光暗刺激增强 MPs 和铜联合毒性反应。研究证明 MPs 与其吸附 Cu 存在协同作用, 其产生联合神经行为毒性大于 Cu。长期慢性毒性研究 (2hpf—14dpf)^[32] 表明, Cu+MPs 暴露降低幼鱼的游泳速度和绝对转角, 减小游泳距离, 减少其在下层水域中活动; 在光暗周期刺激试验中, Cu+MPs 联合暴露增加幼鱼在暗环境中的游动。这些研究结果证明 Cu+MPs 联合暴露对斑马鱼神经行为毒性具有长期和协同效应。

2.2 有机污染物

阻燃剂 多溴联苯醚及其同系物: 多溴联苯

醚能干扰鱼类下丘脑-垂体-甲状腺轴 (Hypothalamus-pituitary-thyroid axis, HPT)、下丘脑-垂体-性腺轴 (Hypothalamo-pituitary-gonadal axis, HPG) 和下丘脑-垂体-肾上腺轴 (Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA) 相关基因表达, 影响内分泌信号通路, 致使内分泌功能改变^[35, 36, 60], 导致鱼类甲状腺激素分泌紊乱, 造成内分泌紊乱, 神经元损伤, 影响生物个体发育 (大脑和骨骼发育等), 产生神经行为毒性效应, 改变个体的游动行为和社交行为。Glazer 等^[4] 通过急性毒性试验证明, BDE-47 (0.1—4 μmol/L) 处理组中斑马鱼幼鱼 (144 hpf) 游动能力降低。顾杰等^[61] 研究 BDE-47 对斑马鱼幼鱼的急性神经毒性作用, 证明 BDE-47 (5—10 μmol/L) 暴露幼鱼 (6 dpf) 游泳速度显著下降; 随 BDE-47 浓度增加, 幼鱼游动轨迹呈剂量依赖性降低, 幼鱼的行为变化与其中枢神经发育相关。在慢性毒性试验中, BDE-47 不但影响鱼类游动行为, 而且还改变鱼类的社交行为。Zhang 等^[62] 发现 BDE-47 (5—500 μg/L) 暴露斑马鱼幼鱼游动路径角有明显的向右偏好, 同时幼鱼社交活动接触和每次接触时间均显著增加 (光照期的社交接触次数均少于黑暗期)。6-OH-BDE-47 (6-羟基-四溴联苯醚) 和 6-MeO-BDE-47 (6-甲氧基-四溴联苯醚) 是生物体内最重要的 BDE-47 衍生物, 它们除了具有较高的生物富集能力和较强的母子传递能力, 还具有神经行为毒性。Zhang 等^[63] 研究 6-OH-BDE-47 和 6-MeO-BDE-47 对斑马鱼幼鱼的神经行为影响, 结果表明, 幼鱼在黑暗环境比在光环境游泳活跃, 喜欢向黑暗处游动; 同时发现这两种衍生物对不同行为指标的影响不同, 对路径角产生不同的影响, 如 6-OH-BDE-47 降低了转弯次数, 而 6-MeO-BDE-47 促进幼体快速转弯, 但抑制社交活动。

在理论上 PBDEs 共有 209 种不同的同系物, PBDEs 同系物对斑马鱼的神经行为毒性并不完全相同。如 BDE-99 毒性试验表明, 低剂量 BDE-99 (0.3 μmol/L) 引发斑马鱼幼鱼多动症, 高浓度 BDE-99 (≥1 μmol/L) 暴露幼鱼则表现出活性降低^[4], 这与同系物 BDE-47^[4, 61, 62] 暴露的神经行为毒性效应并不相同。

四溴双酚 A 及其衍生物: 四溴双酚 A (TBBPA) 分子机制研究表明, TBBPA 上调鱼类 HPT 轴相关基因表达 (*dio1*、*tr*、*pax8* 和 *ugt1ab*), 下调 *dio3b* 的转录水平^[36], 改变甲状腺受体和脱碘酶表达。在早期发育阶段 TBBPA 诱导细胞凋亡、延迟颅运动神经元发育、抑制原代运动神经元发育和肌纤维疏松^[37], 其在脑区积累能够导致动物神经行为改变。Chen 等^[37] 研究斑马鱼早期阶段 TBBPA 暴露对幼鱼的神经行为毒性 (8—48 hph), 证明 TBBPA (5 μmol/L)

暴露组幼鱼活动减少, 游泳速度明显降低, 与其神经发育、肌丝滑动和收缩、细胞外基质分解和装配的生物学过程有关。与Chen等^[37]研究结果相似, 李佳妮等^[64]研究发现TBBPA(2 μmol)对斑马鱼有较强的神经行为毒性作用, 表现为胚胎(20—26hpf)自主运动次数升高, 仔鱼(48hpf)接触反应距离减小, 游泳速度均下调。四溴双酚A双(2-羟基乙基)醚(TBBPA-DHEE)是TBBPA典型的衍生物之一, 其通过增强内源抗氧化酶活性, 诱导 Ca^{2+} 信号通路相关mRNA表达^[65], 其神经行为毒性主要表现为显著降低斑马鱼胚胎自主运动次数, 减少黑暗条件下幼鱼(120hpf)游泳距离及累计持续游动时间^[65]。

双酚A及其衍生物: 双酚A(BPA)具有内分泌干扰效应, 可干扰甲状腺激素、雌激素和雄激素受体等, 影响鱼类的神经发育, 特别是早期神经发育及相关功能^[66, 67], 对胚胎/幼鱼产生明显神经行为毒性, 如游泳运动距离、时间和速度的显著下降^[66—68]。在低浓度BPA(1—30 $\mu\text{g/L}$)暴露下, 斑马鱼幼鱼神经行为毒性效应表现为游动速率变化^[67], 如幼鱼(2—120hpf)游泳速率显著下降, 连续光照下BPA(3 $\mu\text{g/L}$)减小幼鱼运动速率; 而在光暗交替刺激下, BPA处理组幼鱼的游泳速率变化并不一致, 其中在光照期BPA(3、10和30 $\mu\text{g/L}$)暴露幼鱼游动速率下降, 而在黑暗环境下, 仅有10和30 $\mu\text{g/L}$ BPA处理的幼鱼游动速率下降。在高浓度BPA暴露下, 幼鱼的神经行为毒性则表现出显著的行为学变化。Wang等^[68]研究BPA暴露对斑马鱼胚胎/幼鱼的轴突生长、肌肉组织和运动行为的影响, 证明高浓度BPA(约3400 $\mu\text{g/L}$)暴露斑马鱼胚胎/幼鱼表现出显著的行为学变化, 如胚胎(27—29hpf)自发运动频率下降、触碰反应降低, 幼鱼(120hpf)游动距离、时间和速度的显著下降。潘睿等^[66]研究表明, 暴露于BPA(2500 $\mu\text{g/L}$)中斑马鱼胚胎(24hpf)自主运动和心率(48hpf)降低, 幼鱼(144hpf)运动距离和游泳速度减小; 在强光刺激下, BPA(250和2500 $\mu\text{g/L}$)减少幼鱼运动距离。而夏凉等^[69]在BPA污染对斑马鱼胚胎形态、行为和基因表达的生态毒理效应研究发现, 即便在最高浓度500 $\mu\text{g/L}$ BPA暴露条件下, 也没有观察到BPA对胚胎/幼鱼(96hpf)产生神经行为毒性。

有机氯类污染物 有机氯类污染物对鱼类具有潜在神经行为毒性, 诱发神经功能性疾病, 导致游泳行为改变。赵晨曦等^[70]研究三氯卡班(Triclocarban, TCC)环境暴露对斑马鱼神经行为的影响, 结果表明, TCC暴露造成胚胎和幼鱼自主运动活力减少, 对声、光外界刺激的敏感度降低; 长期暴露在TCC环境中成鱼出现过度焦虑及恐慌, 其避险和

警惕能力下降, 并表现出自闭, 不愿社交, 影响斑马鱼的记忆力、学习能力和辨别认知功能, 这可能与侧线神经丘形态畸形, 发育受到抑制, 毛细胞团数量减少且排列紊乱相关。Schultz等^[38]研究三氯生(Triclosan, TCS)和TCC对胖头鲮(*Pimephales promelas*)组织、生理和行为特征影响, 结果表明TCC(1.6 $\mu\text{g/L}$)或混合物(560 ng/L TCS+179 ng/L TCC和1.6 $\mu\text{g/L}$ TCS+450 ng/L TCC)降低胖头鲮攻击性。同时检测胖头鲮的血浆卵黄蛋白原浓度, 证明其行为变化与血浆卵黄蛋白原浓度有关。而对于虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)仔鱼, TCS(71.3 mg/L)延迟仔鱼初次上浮时间, 这可能与离子吸收有关^[71]。有机氯杀虫剂二氯二苯三氯乙烷(*Dichlorodiphenyl trichloroethane*, 俗称DDT)是广谱有机氯类杀虫剂。Hawkey等^[5]研究DDT(10—30 nmol/L)暴露环境中斑马鱼长期的行为和神经化学改变, 结果表明, 在DDT暴露1周后斑马鱼焦虑性潜水反应和逃逸行为增加, 2周后对其运动活动影响较小, 5周后会导致其活动性下降, 14月后斑马鱼表现出活动性降低和惊吓反应增加, 表明DDT对鱼类具有长期潜在的神经行为毒性。

有机磷类污染物 有机磷类污染物(OPs)通过干扰中枢和外周神经系统AChE对非靶标水生动物机体产生神经毒性并导致其行为异常外^[72], 还可作为内分泌干扰物(EEDs)对动物的生殖、发育和内分泌产生干扰作用, 诱发机体的氧化应激过程、造成DNA损伤、导致神经行为毒性等多种毒性效应^[73]。毒死蜱(CPF)是最普遍的有机磷农药之一, 能显著影响幼鱼游泳和光-暗刺激反应行为, 如CPF暴露降低幼鱼运动行为(游泳距离和速度)和光周期刺激幼鱼的活动(游泳距离)。Glazer等^[4]研究表明, 0.3 $\mu\text{mol/L}$ CPF暴露斑马鱼幼鱼(144hpf)的游动能力降低, 而成鱼(180dpf)则表现出焦虑相关行为减少。Yen等^[74]研究3种不同OPs[CPF、二嗪农(DZN)和对硫磷(PA)]对斑马鱼幼体神经毒性作用, 证明在非致死浓度下, CPF、DZN和PA有效地抑制AChE活性, CPF(300 nmol/L)和DZN(10 $\mu\text{mol/L}$)暴露降低幼鱼游动(35%—50%), 而PA(10 $\mu\text{mol/L}$)暴露导致幼鱼无法游动, 畸形发育; 在斑马鱼早期发育过程中, 幼鱼对CPF暴露敏感, 干扰幼鱼游泳行为。长期毒性试验证明, OPs存在长期潜在神经行为毒性。Hawkey等^[5]证明CPF(0.3—3 $\mu\text{mol/L}$)暴露1周后斑马鱼集群效应增加, 2周后焦虑性集群效应减小, 14月后斑马鱼表现出游动过度活跃和捕食者逃逸障碍。此外, 研究中还发现CPF暴露幼鱼出现选择性缺陷, 在成体期出现空间辨别力减少和响应

延迟, 成鱼可能出现持续性多动症和认知障碍^[75]。

有机磷杀虫剂的暴露时间、浓度和类型对鱼类产生的神经毒性并不同, 其行为表现也不完全相同。CPF暴露(1—5dpf)斑马鱼幼鱼游泳速度降低, 静息时间增加, 在水体边缘和侧面游动偏好降低, 其*AchE*水平显著降低; 而有机磷类杀虫剂马拉硫磷处理的幼鱼则表现出完全不同行为(游泳速度增加, 休息时间减少等), 其偏好性未发生改变, *AchE*活性无显著变化^[72]。研究者认为, 这与马拉硫磷影响前脑的发育有关, 而有机磷杀虫剂(极低浓度)可在不影响*AchE*活性的情况下, 通过其他途径影响斑马鱼的行为, 产生神经行为毒性。

3 药物

行为分析揭示大脑的功能变化, 不同的行为参数的神经生物学机制不同。鱼类组织和器官与哺乳动物同源^[7], 药物对鱼类和哺乳动物中枢神经系统的作用机制相似^[8, 9, 76], 表现出类似的神经行为特征^[10]。鱼类行为研究将有助于了解药物诱导脊椎动物大脑变化的机制和药理作用, 阐明药物作用机制^[77, 78]、相互作用^[40, 41]和毒副作用^[40, 41], 为改善药物质量、提高药物疗效、防治不良反应提供理论依据。鱼类是研究神经系统机制和药物研发的重要生物模型^[1, 79—82]。

酒精 酒精是世界上最常被滥用的物质之一。尽管已知酒精通过参与许多复杂的信号通路对中枢神经系统产生影响, 但其确切的作用机制仍知之甚少^[83, 84]。酒精对人类和鱼类作用机制相似, 表现出类似的行为特征^[10], 研究酒精对鱼类神经行为毒性将有助于阐明其神经作用机制。Tran等^[77]以药物剂量和时间依赖的斑马鱼的游泳行为效应(平均游泳距离、离底距离和转角速度), 建立酒精诱导斑马鱼行为变化的时间轨迹, 发现最高急毒剂量组(1.00%, *V/V*)斑马鱼游动距离时间轨迹呈倒“U”形, 而这种行为在酒精长期慢性暴露后明显减弱; 在急性酒精戒断期间, 斑马鱼游泳转角速度增加。酒精诱导斑马鱼行为变化的时间轨迹证明, 斑马鱼行为时间分析可用于研究酒精诱导的脊椎动物大脑功能变化, 为阐明酒精作用于人类中枢神经系统的机制提供重要方法。

咖啡因 咖啡因(3,7-trimethylpurine-2,6-dione)作为腺苷受体阻滞剂和轻度中枢神经系统兴奋剂, 是世界上消费最广泛的精神活性药物。咖啡因暴露影响鱼类探索行为和避光行为等活动, 导致其产生焦虑效应^[40, 41, 85]。咖啡因、牛磺酸暴露斑马鱼焦虑样行为及皮质醇水平研究表明, 咖啡因

(100 mg/L)减少斑马鱼在新环境探索活动量, 增加其避光行为, 产生焦虑样效应; 当斑马鱼暴露于咖啡因+牛磺酸(100 mg/L+ 400 mg/L)中, 牛磺酸不会改变焦虑样行为反应的基本水平, 也不会改善咖啡因产生的焦虑行为效应^[40]。给药途径不同, 药物对斑马鱼的神经行为毒性不同, 如经腹腔注射的咖啡因可增加斑马鱼的运动活性^[85], 而采用药浴方式, 其对斑马鱼运动活性表现出抑制作用^[41]。

抗焦虑药物 苯二氮卓类药物(Benzodiazepines, BZDs)和选择性血清素再吸收抑制剂(Selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs)等抗焦虑药物能改变鱼类游泳行为和社会活动, 对鱼类具有镇静、缓解焦虑样反应作用^[6, 41, 42, 86—88]。

苯二氮卓类药物: 在鱼类神经行为毒性研究中, BZDs暴露抑制鱼类游泳行为, 改变其焦虑样行为和社会行为^[41, 86]。Tran等^[41]研究表明, 地西洋(Diazepam)对斑马鱼游泳行为具有抑制作用, 呈时间依赖性效应; 酒精可以增强地西洋对斑马鱼的镇静作用, 存在时间依赖性相互作用, 斑马鱼的特定行为参数显示了药物相互作用的主要影响。在评价土霉素(Oxytetracycline, OTC)诱导的焦虑样反应机制中, 研究者测试氯硝西泮(Clonazepam, CZP, 0.006 mg/L)对斑马鱼行为影响, 结果表明, OTC联合CZP组斑马鱼在水体上层停留时间增加, 表明CZP逆转了OTC诱导的焦虑样行为。在社交行为研究中发现, CZP减少OTC(10 mg/L)组斑马鱼在刺激区停留的时间, 降低进入刺激区频率。由此证明, OTC诱导斑马鱼的焦虑样行为和社会交往的变化, CZP可恢复由OTC诱导斑马鱼的行为变化^[86]。

选择性血清素再吸收抑制剂: SSRIs通过调节鱼类血清素(Serotonin, 5-HT), 改变其游泳时间和距离等游泳行为, 干扰游泳能力, 影响焦虑性等社会活动, 产生神经行为毒性^[6, 42, 87, 88]。De Farias等^[42]证明氟西汀(Fluoxetine, FLX)暴露($\geq 15.8 \mu\text{g/L}$)120—168h减小斑马幼鱼的游泳距离; 低浓度FLX(8.8—15.8 $\mu\text{g/L}$, 120h)减少幼鱼游泳时间, 高浓度FLX(500 $\mu\text{g/L}$, 120—168h)暴露幼鱼的游泳时间呈现先增加而随后减少的变化。Atzei等^[6]研究卡马西平(Carbamazepine)、FLX、文拉法辛(Venlafaxine)及其代谢物10,11-环氧化卡马西平(Carbamazepine 10,11-epoxide, CBZ 10,11E)、去甲氟西汀(Norfluoxetine)、去甲文拉法辛(Desvenlafaxine)暴露(受精后2.5h—5d)对斑马鱼的神经行为毒性, 结果表明除CBZ 10,11E外, 其余化合物均能抑制斑马鱼的游动能力, 呈剂量依赖性效应。FLX暴露不仅干扰鱼类游动能力, 还影响其社交行为。如FLX降低青鳉

(100 $\mu\text{g/L}$, 10d)社交焦虑性行为, 减少社交互动^[87]。对于不同性别, 其浓度不同, 鱼类所表现出的行为也不同。如61 ng/L FLX降低雌性食蚊鱼(*Gambusia holbrooki*)的焦虑性, 而对于雄性食蚊鱼, 352 ng/L FLX增加其焦虑性^[88]。

4 展望

鱼类是神经行为毒性研究的重要物种, 鱼类神经行为毒性研究为生态环境监测和评价、渔业生产、神经系统机制探究及药物开发提供理论参考。目前鱼类神经行为毒性研究处于鱼类游泳行为和社会行为探索阶段, 对于鱼类神经行为毒性研究应重点关注以下方面:

(1)结合计算行为学, 开展鱼类神经行为毒性研究。随计算机科学的发展, 行为学研究已从自然状态和实验范式中的行为观察发展到计算行为学。基于动物行为学研究基础, 鱼类神经行为毒性研究应结合计算行为学, 监测和计算鱼类游动轨迹, 定量测量、系统描述和科学分析有害因素对鱼类产生的神经行为效应。

(2)运用现代组学技术, 解析鱼类神经行为毒性分子机制。目前已有近百种鱼类完成了全基因组测序工作, 在不久的将来, 会有近万种的鱼类完成全基因组测序和精细图谱绘制, 高质量的鱼类基因组数据库建立、基因组资源发掘和开发无疑为实现从基因水平解读鱼类的神经行为提供分子基础。鱼类神经行为毒性研究要在目前研究基础上, 结合鱼类基因组学数据, 运用现代组学技术, 揭示鱼类神经行为毒性的致毒机制。

(3)结合环境因子, 开展有害因素对鱼类神经行为的复合、长期毒理研究。生态系统各单元之间存在大量非线性联系, 是极其复杂的网络系统。未来, 基于神经行为毒性研究成果, 应结合有害因素分布区域的环境因子, 进一步探明其对鱼类神经行为的复合、长期生态毒理效应。

参考文献:

- [1] Fontana B D, Mezzomo N J, Kalueff A V, *et al.* The developing utility of zebrafish models of neurological and neuropsychiatric disorders: A critical review [J]. *Experimental Neurology*, 2018(299): 157-171.
- [2] De Abreu M S, Giacomini A C V, Genario R, *et al.* Neuropharmacology, pharmacogenetics and pharmacogenomics of aggression: The zebrafish model [J]. *Pharmacological Research*, 2019(141): 602-608.
- [3] Santos D, Félix L, Luzio A, *et al.* Toxicological effects induced on early life stages of zebrafish (*Danio rerio*) after an acute exposure to microplastics alone or co-exposed with copper [J]. *Chemosphere*, 2020(261): 127748.
- [4] Glazer L, Wells C N, Drastal M, *et al.* Developmental exposure to low concentrations of two brominated flame retardants, BDE-47 and BDE-99, causes life-long behavioral alterations in zebrafish [J]. *NeuroToxicology*, 2018(66): 221-232.
- [5] Hawkey A B, Glazer L, Dean C, *et al.* Adult exposure to insecticides causes persistent behavioral and neurochemical alterations in zebrafish [J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2020(78): 106853.
- [6] Atzei A, Jense I, Zwart E P, *et al.* Developmental neurotoxicity of environmentally relevant pharmaceuticals and mixtures thereof in a zebrafish embryo behavioural test [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, **18**(13): 6717.
- [7] Von Hofsten J, Olsson P E. Zebrafish sex determination and differentiation: involvement of *FTZ-F1* genes [J]. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2005(3): 63.
- [8] Abreu M S, Giacomini A C V, Gusso D, *et al.* Acute exposure to waterborne psychoactive drugs attract zebrafish [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2016(179): 37-43.
- [9] Vacaru A M, Unlu G, Spitzner M, *et al.* In vivo cell biology in zebrafish - providing insights into vertebrate development and disease [J]. *Journal of Cell Science*, 2014(127): 485-495.
- [10] Barbazuk W B, Korf I, Kadavi C, *et al.* The syntenic relationship of the zebrafish and human genomes [J]. *Genome Research*, 2000, **10**(9): 1351-1358.
- [11] de Esch C, Sliker R, Wolterbeek A, *et al.* Zebrafish as potential model for developmental neurotoxicity testing: a mini review [J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2012, **34**(6): 545-553.
- [12] Ton C, Lin Y, Willett C. Zebrafish as a model for developmental neurotoxicity testing [J]. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, 2006, **76**(7): 553-567.
- [13] Friedrich T, Lambert A M, Masino M A, *et al.* Mutation of zebrafish dihydrolipoamide branched-chain transacylase E2 results in motor dysfunction and models maple syrup urine disease [J]. *Disease Models & Mechanisms*, 2012, **5**(2): 248-258.
- [14] Lange M, Norton W, Coolen M, *et al.* The ADHD-susceptibility gene *lphn3.1* modulates dopaminergic neuron formation and locomotor activity during zebrafish development [J]. *Molecular Psychiatry*, 2012, **17**(9): 946-954.
- [15] Levitas-Djerbi T, Appelbaum L. Modeling sleep and neuropsychiatric disorders in zebrafish [J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 2017(44): 89-93.
- [16] Morris J A. Zebrafish: a model system to examine the neurodevelopmental basis of schizophrenia [J]. *Progress in Brain Research*, 2009(179): 97-106.
- [17] Norton W H. Toward developmental models of psychiat-

- ric disorders in zebrafish [J]. *Frontiers in Neural Circuits*, 2013(7): 79.
- [18] Dong S, Kang M, Wu X, *et al.* Development of a promising fish model (*Oryzias melastigma*) for assessing multiple responses to stresses in the marine environment [J]. *BioMed Research International*, 2014(2014): 563131.
- [19] Reznick D N. Life history evolution in guppies (*Poecilia reticulata*): Guppies as a model for studying the evolutionary biology of aging [J]. *Experimental Gerontology*, 1997, **32**(3): 245-258.
- [20] Aich A, Goswami A R, Roy U S, *et al.* Ecotoxicological assessment of tannery effluent using guppy fish (*Poecilia reticulata*) as an experimental model: a biomarker study [J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 2015, **78**(4): 278-286.
- [21] Aich A, Chattopadhyay B, Datta S, *et al.* Impact of composite tannery effluent on the amino-transferase activities in a fish biosystem, using guppy fish (*Poecilia reticulata*) as an experimental model [J]. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 2011, **93**(1): 85-91.
- [22] Kuang Y Y, Zheng X H, Li C Y, *et al.* The genetic map of goldfish (*Carassius auratus*) provided insights to the divergent genome evolutions in the Cyprinidae family [J]. *Scientific Reports*, 2016(6): 34849.
- [23] Katzenback B A, Katakura F, Belosevic M. Goldfish (*Carassius auratus* L.) as a model system to study the growth factors, receptors and transcription factors that govern myelopoiesis in fish [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2016(58): 68-85.
- [24] Hendricks J D, Wales J H, Sinnhuber R O, *et al.* Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) embryos: a sensitive animal model for experimental carcinogenesis [J]. *Federation Proceedings*, 1980, **39**(14): 3222-3229.
- [25] Michel C. A standardized model of experimental furunculosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1980, **37**(4): 746-750.
- [26] Kawakami K, Patton E E, Orger M. Zebrafish: Methods and Protocols [M]. Totowa: Humana Press, 2016: 107-118.
- [27] Scholl A. Biochemical Evolution in the Genus *Xiphophorus* (Poeciliidae, Teleostei) [M]//SCHRÖDER J H. Genetics and Mutagenesis of Fish. Heidelberg: Springer, 1973: 277-299.
- [28] Wittbrodt J, Shima A, Scharl M. Medaka-a model organism from the far East [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2002, **3**(1): 53-64.
- [29] Kinoshita M, Murata K, Naruse K, *et al.* Medaka: Biology, Management, and Experimental Protocols (Second edition) [M]. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2020. 101-116.
- [30] Xu G C, Du F K, Bian C, *et al.* Research progress on fish genomics [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2017, **33**(9): 23-31. [徐钢春, 杜富宽, 卞超, 等. 鱼类基因组研究进展 [J]. 生物技术通报, 2017, **33**(9): 23-31.]
- [31] Chen S L, Xu W T, Liu Y. Fish genomic research: Decade review and prospect [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, **43**(1): 1-14. [陈松林, 徐文腾, 刘洋. 鱼类基因组研究十年回顾与展望 [J]. 水产学报, 2019, **43**(1): 1-14.]
- [32] Santos D, Luzio A, Matos C, *et al.* Microplastics alone or co-exposed with copper induce neurotoxicity and behavioral alterations on zebrafish larvae after a subchronic exposure [J]. *Aquatic Toxicology*, 2021(235): 105814.
- [33] Barboza L G A, Vieira L R, Guilhermino L. Single and combined effects of microplastics and mercury on juveniles of the European seabass (*Dicentrarchus labrax*): Changes in behavioural responses and reduction of swimming velocity and resistance time [J]. *Environmental Pollution*, 2018(236): 1014-1019.
- [34] Mak C W, Ching-Fong Yeung K, Chan K M. Acute toxic effects of polyethylene microplastic on adult zebrafish [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019(182): 109442.
- [35] Yin X Y, Dong W J, Li J W, *et al.* BDE-99 from indoor dust interferes with Dio3 and affects thyroid function regulation in zebrafish [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2021, **16**(2): 219-226. [尹晓宇, 董文静, 李嘉伟, 等. 室内灰尘中五溴联苯醚(BDE-99)干扰Dio3影响斑马鱼甲状腺功能调节 [J]. 生态毒理学报, 2021, **16**(2): 219-226.]
- [36] Parsons A, Lange A, Hutchinson T H, *et al.* Molecular mechanisms and tissue targets of brominated flame retardants, BDE-47 and TBBPA, in embryo-larval life stages of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2019(209): 99-112.
- [37] Chen J, Tanguay R L, Xiao Y, *et al.* TBBPA exposure during a sensitive developmental window produces neuro-behavioral changes in larval zebrafish [J]. *Environmental Pollution*, 2016(216): 53-63.
- [38] Schultz M M, Bartell S E, Schoenfuss H L. Effects of triclosan and triclocarban, two ubiquitous environmental contaminants, on anatomy, physiology, and behavior of the fathead minnow (*Pimephales promelas*) [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2012, **63**(1): 114-124.
- [39] Jin Y, Liu Z, Peng T, *et al.* The toxicity of chlorpyrifos on the early life stage of zebrafish: a survey on the endpoints at development, locomotor behavior, oxidative stress and immunotoxicity [J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2015, **43**(2): 405-414.
- [40] Alia A O, Petrunich-Rutherford M L. Anxiety-like behavior and whole-body cortisol responses to components of energy drinks in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *PeerJ*, 2019(7): e7546.
- [41] Tran S, Fulcher N, Nowicki M, *et al.* Time-dependent interacting effects of caffeine, diazepam, and ethanol on

- zebrafish behaviour [J]. *Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2017(75): 16-27.
- [42] de Farias N O, Oliveira R, Sousa-Moura D, *et al.* Exposure to low concentration of fluoxetine affects development, behaviour and acetylcholinesterase activity of zebrafish embryos [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2019(215): 1-8.
- [43] Lu Y, Zhang Y, Deng Y, *et al.* Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, **50**(7): 4054-4060.
- [44] Wang J, Li Y, Lu L, *et al.* Polystyrene microplastics cause tissue damages, sex-specific reproductive disruption and transgenerational effects in marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Environmental Pollution*, 2019(254): 113024.
- [45] Sarasamma S, Audira G, Siregar P, *et al.* Nanoplastics cause neurobehavioral impairments, reproductive and oxidative damages, and biomarker responses in zebrafish: throwing up alarms of wide spread health risk of exposure [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, **21**(4): 1410.
- [46] Kashiwada S. Distribution of nanoparticles in the see-through medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2006, **114**(11): 1697-1702.
- [47] Mattsson K, Ekvall M T, Hansson L A, *et al.* Altered behavior, physiology, and metabolism in fish exposed to polystyrene nanoparticles [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49**(1): 553-561.
- [48] Watts A J, Lewis C, Goodhead R M, *et al.* Uptake and retention of microplastics by the shore crab *Carcinus maenas* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(15): 8823-8830.
- [49] Cole M, Galloway T S. Ingestion of nanoplastics and microplastics by Pacific oyster larvae [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49**(24): 14625-14632.
- [50] Yin L, Liu H, Cui H, *et al.* Impacts of polystyrene microplastics on the behavior and metabolism in a marine demersal teleost, black rockfish (*Sebastes schlegelii*) [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019(380): 120861.
- [51] Limonta G, Mancia A, Benkhalqui A, *et al.* Microplastics induce transcriptional changes, immune response and behavioral alterations in adult zebrafish [J]. *Scientific Reports*, 2019, **9**(1): 15775.
- [52] Pannetier P, Morin B, le Bihanic F, *et al.* Environmental samples of microplastics induce significant toxic effects in fish larvae [J]. *Environment International*, 2020(134): 105047.
- [53] Qiang L, Cheng J. Exposure to microplastics decreases swimming competence in larval zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019(176): 226-233.
- [54] Chen Q, Gundlach M, Yang S, *et al.* Quantitative investigation of the mechanisms of microplastics and nanoplastics toward zebrafish larvae locomotor activity [J]. *Science of the Total Environment*, 2017(584-585): 1022-1031.
- [55] Yang H, Xiong H, Mi K, *et al.* Toxicity comparison of nano-sized and micron-sized microplastics to goldfish *Carassius auratus* Larvae [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020(388): 122058.
- [56] Turner A, Holmes L A. Adsorption of trace metals by microplastic pellets in fresh water [J]. *Environmental Chemistry*, 2015, **12**(5): 600-610.
- [57] Rochman C M, Hentschel B T, Teh S J. Long-term sorption of metals is similar among plastic types: implications for plastic debris in aquatic environments [J]. *PLoS One*, 2014, **9**(1): e85433.
- [58] Godoy V, Blázquez G, Calero M, *et al.* The potential of microplastics as carriers of metals [J]. *Environmental Pollution*, 2019(255): 113363.
- [59] Cao H, Hu Y M, Pan Y J, *et al.* Risk caused by heterogeneity of heavy metals in aquatic products [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2021, **16**(6): 161-173. [曹欢, 胡钰梅, 潘迎捷, 等. 水产品中重金属异质性导致的风险 [J]. 生态毒理学报, 2021, **16**(6): 161-173.]
- [60] Jin Y R, Liu H L, Han Z H, *et al.* Effects of BDE-28 and BDE-99 on functional gene expression along HPT, HPG and HPA axes during early life stages of zebrafish [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2018, **13**(1): 106-118. [靳亚茹, 刘红玲, 韩志华, 等. BDE-28及BDE-99对斑马鱼早期生命阶段HPT、HPG和HPA轴功能基因表达水平的影响 [J]. 生态毒理学报, 2018, **13**(1): 106-118.]
- [61] Gu J, Guo M, Ji G X, *et al.* Detecting the neurotoxicity effects of 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether using transgenic zebrafish [J]. *Environmental Monitoring and Forewarning*, 2020, **12**(5): 99-104. [顾杰, 郭敏, 吉贵祥, 等. 利用转基因斑马鱼探究四溴联苯醚(BDE-47)的神经毒性作用 [J]. 环境监控与预警, 2020, **12**(5): 99-104.]
- [62] Zhang B, Chen X, Pan R, *et al.* Effects of three different embryonic exposure modes of 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether on the path angle and social activity of zebrafish larvae [J]. *Chemosphere*, 2017(169): 542-549.
- [63] Zhang B, Xu T, Huang G, *et al.* Neurobehavioral effects of two metabolites of BDE-47 (6-OH-BDE-47 and 6-MeO-BDE-47) on zebrafish larvae [J]. *Chemosphere*, 2018(200): 30-35.
- [64] Li J, Chen J, Dong H, *et al.* Effects of LM609 combined with TBBPA on neurobehavioral toxicity in zebrafish [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2021, **62**(4): 795-799+805. [李佳妮, 陈将飞, 董昊嘉, 等. LM609联合TBBPA对斑马鱼神经行为毒性的影响 [J]. 浙江农业科学, 2021, **62**(4): 795-799+805.]
- [65] Xu T, Feng W W, Ding Y Y, *et al.* Neurotoxicity and mechanisms of TBBPA-DHEE exposure in zebrafish [J].

- Journal of Jiangsu University (Medicine Edition)*, 2021, **31**(3): 227-233+263. [徐彤, 冯伟伟, 丁阳阳, 等. TB-BPA-DHEE暴露对斑马鱼的神经毒性及机制研究 [J]. 江苏大学学报(医学版), 2021, **31**(3): 227-233+263.]
- [66] Pan R, Hu J Y, Hu Y, *et al.* Effects of bisphenol A exposure during embryonic phase on development and neurobehavior of zebrafish [J]. *Journal of Shanghai Jiao Tong University (Medical Science)*, 2019, **39**(5): 458-462. [潘睿, 胡晶莹, 户宜, 等. 胚胎期双酚A暴露对斑马鱼发育及神经行为的影响 [J]. 上海交通大学学报(医学版), 2019, **39**(5): 458-462.]
- [67] Yang L H, Shi Q P, Zhou B S. The effects of BPA on neurobehavior and neurotransmitters of larval zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, **12**(3): 162-169. [杨丽华, 史奇朋, 周炳升. 双酚A对斑马鱼幼鱼神经递质和神经行为的影响 [J]. 生态毒理学报, 2017, **12**(3): 162-169.]
- [68] Wang X, Dong Q, Chen Y, *et al.* Bisphenol A affects axonal growth, musculature and motor behavior in developing zebrafish [J]. *Aquatic Toxicology*, 2013(142-143): 104-113.
- [69] Xia L. Ecotoxicity of several pharmaceutical pollutants on embryo morphology, behavior and genetic expression in zebrafish [D]. Shanghai: East China Normal University, 2018: 44-53 [夏凉. 药物类污染对斑马鱼胚胎形态、行为和基因表达的生态毒理效应研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2018: 44-53.]
- [70] Zhao C X, Wang Y, Qian Q H, *et al.* Effects of environmental exposure to triclocarban on the neurobehavior of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *China Environmental Science*, 2022, **42**(1): 456-464. [赵晨曦, 王杨, 钱秋慧, 等. 三氯卡班环境暴露对斑马鱼神经行为的影响 [J]. 中国环境科学, 2022, **42**(1): 456-464.]
- [71] Orvos D R, Versteeg D J, Inauen J, *et al.* Aquatic toxicity of triclosan [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, **21**(7): 1338-1349.
- [72] Richendrfer H, Creton R. Chlorpyrifos and malathion have opposite effects on behaviors and brain size that are not correlated to changes in AChE activity [J]. *NeuroToxicology*, 2015(49): 50-58.
- [73] Li B, Ma Y, Zhang Y H. Review on toxic mechanisms of organophosphate insecticides towards non-target aquatilia [J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2016, **18**(4): 407-415. [李勃, 马瑜, 张育辉. 有机磷杀虫剂对非靶标水生动物的毒性机制研究进展 [J]. 农药学报, 2016, **18**(4): 407-415.]
- [74] Yen J, Donerly S, Levin E D, *et al.* Differential acetylcholinesterase inhibition of chlorpyrifos, diazinon and parathion in larval zebrafish [J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2011, **33**(6): 735-741.
- [75] Levin E D, Chrysanthis E, Yacisin K, *et al.* Chlorpyrifos exposure of developing zebrafish: effects on survival and long-term effects on response latency and spatial discrimination [J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2003, **25**(1): 51-57.
- [76] Stewart A M, Grossman L, Collier A D, *et al.* Anxiogenic-like effects of chronic nicotine exposure in zebrafish [J]. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2015(139): 112-120.
- [77] Tran S, Gerlai R. Time-course of behavioural changes induced by ethanol in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Behavioural Brain Research*, 2013(252): 204-213.
- [78] Gerlai R, Lee V, Blaser R. Effects of acute and chronic ethanol exposure on the behavior of adult zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2006, **85**(4): 752-761.
- [79] Khan K M, Collier A D, Meshalkina D A, *et al.* Zebrafish models in neuropsychopharmacology and CNS drug discovery [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2017, **174**(13): 1925-1944.
- [80] Meshalkina D A, Kysil E V, Warnick J E, *et al.* Adult zebrafish in CNS disease modeling: a tank that's half-full, not half-empty, and still filling [J]. *Lab Animal*, 2017, **46**(10): 378-387.
- [81] Volgin A D, Yakovlev O A, Demin K A, *et al.* Zebrafish models for personalized psychiatry: Insights from individual, strain and sex differences, and modeling gene x environment interactions [J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2019, **97**(4): 402-413.
- [82] Bambino K, Chu J. Zebrafish in toxicology and environmental health [J]. *Current Topics in Developmental Biology*, 2017(124): 331-367.
- [83] Vengeliene V, Bilbao A, Molander A, *et al.* Neuropharmacology of alcohol addiction [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2008, **154**(2): 299-315.
- [84] Hyman S E, Malenka R C. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence [J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2001, **2**(10): 695-703.
- [85] Maximino C, da Silva A W, Araújo J, *et al.* Fingerprinting of psychoactive drugs in zebrafish anxiety-like behaviors [J]. *PLoS One*, 2014, **9**(7): e103943.
- [86] Gusso D, Altenhofen S, Fritsch P M, *et al.* Oxytetracycline induces anxiety-like behavior in adult zebrafish [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2021(426): 115616.
- [87] Ansai S, Hosokawa H, Maegawa S, *et al.* Chronic fluoxetine treatment induces anxiolytic responses and altered social behaviors in medaka, *Oryzias latipes* [J]. *Behavioural Brain Research*, 2016(303): 126-136.
- [88] Martin J M, Bertram M G, Saaristo M, *et al.* Antidepressants in surface waters: Fluoxetine influences mosquito anxiety-related behavior at environmentally relevant levels [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, **53**(10): 6035-6043.

PROGRESS ON NEUROBEHAVIORAL TOXICITY IN FISHES

LI Shu-Shen^{1,2}, ZHAO Zhi-Yuan^{1,2}, SUI Chang-Run^{1,2}, JI Mei-Xu^{1,2}, PANG Yue^{1,2}, LI Qing-Wei^{1,2} and LI Jun^{1,2}

(1. College of Life Science, Lamprey Research Center, Liaoning Normal University, Dalian 116081, China; 2. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: Neurobehavioral toxicity is one of important research fields in neuroscience, neuropharmacology and neurotoxicology, which of growing importance for understanding the mechanisms of chemicals on nervous system and for evaluating the quality of ecosystem. Possessing well-developed central nervous system, fish is extremely sensitive to chemicals in the water environment, and the nervous system can produce a comprehensive and coordinated response to various stimuli, which resulted in complex, well-characterized behaviors, including its swimming behaviors and social behaviors. And fish behavior is now recognized as a complex, homologous to mammals, context specific, adaptive and highly variable. A variety of behavioral tests have been developed to assess motor function, stress response, social behavior and learning/memory in fish. And behavior of fish can be measured to determine the functional impact of chemicals. The elementary actions of a neurotoxicant can be followed in terms of disruptions of neural differentiation, proliferation, migration, outgrowth, synapse formation, and circuit development. Fish has been widely used as a tool to detect toxins in water samples and to investigate the mechanisms of action of environmental toxins and their related diseases in recent years. Fish offer many advantages that complement classic mammalian models for the study of normal development as well as for neurobehavioral effects of exposure to chemicals. Fish provide a key intermediate model of neurobehavioral toxicity between high throughput in vitro cell-based assays and the classic mammalian models as they have the accessibility of in vitro models and the complex functional capabilities of mammalian models. The present article reviews recent research progress on neurobehavioral toxicology studies using fish as a model, and we present and discuss the neurobehavioral toxicity of typical pollutants (microplastics and toxins absorbed to microplastics, organic pollutants, *et al.*) and drugs (alcohol, caffeine, benzodiazepines, selective serotonin reuptake inhibitors, *et al.*) on fish. And future research directions are proposed. The article is expected to provide a reference for researchers in neurobehavioral toxicity and its application.

Key words: Neurobehavioral toxicity; Pollutants; Drugs; Fish