

ماهی گورخری (*Danio rerio*)؛ مدل زیستی مطالعات نانو توکسیکولوژی

فاطمه دارابی تبار^۱، سید علی اکبر هدایتی^۲

۱- نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد، گرگان، میدان بسیج، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

۲- دکتری اکولوژی آبزیان، استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*Darabitar@gmail.com

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۴

چکیده

نانوتکنولوژی فناوری نوظهوری است که همزمان با افزایش سهم آن در اقتصاد و زندگی، احتمال دارد. مانند هر تکنولوژی دیگری خطراتی را برای محیط زیست و انسان با خود به ارمغان بیاورد. می توان انتظار داشت که اندازه بسیار کوچک نانوذرات نقش مهمی در سمیت این مواد داشته باشد، خصوصاً اگر اندازه این ذرات کوچک تر از ۱۰۰ nm با سایر اجزا بیولوژیکی بدن انسان مانند گلبول های قرمز ۷۰۰ nm مورد مقایسه قرار گیرد. نانوذرات توانایی این را دارند که غشاء سلولی را پشت سر گذاشته و وارد سلول ها شوند. ماهی گورخری (زبرا) با نام علمی *Danio rerio* متعلق به خانواده Cyprinidea است. ماهی زبرا در سال های اخیر به عنوان مدلی جهت آنالیز سریع عملکرد ژن ها و فعالیت های بیولوژیکی مولکول های آلی مطرح شده است. به علت شباهت های بالای ژنتیکی، فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی با انسان، این ماهی جهت تشخیص مواد طبیعی با پتانسیل های درمانی مختلف، بسیار مناسب به نظر می رسد. جنین ماهی زبرا فیش به عنوان مدل برای سمیت تجربی و زیستی به علت رشد سریع خود استفاده شده است. به عنوان یک مدل پیش بینی ماهی ها می توانند برای برآورد نانوتوکسیکولوژی از ذرات فلزی و اکسید فلزی مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات کلیدی: ماهی گورخری (زبرا)، مدل زیستی، نانوتوکسیکولوژی، ژنتیک.

مقدمه

نانوتکنولوژی فناوری نوظهوری است که همزمان با افزایش سهم آن در اقتصاد و زندگی، احتمال دارد مانند هر تکنولوژی دیگری خطراتی را برای محیط زیست و انسان با خود به ارمغان بیاورد. ویژگی وابسته به سطح و اندازه بسیار کوچک نانو ذرات و نانو مواد سبب جابجایی آسان و ویژگی‌های جدیدی در آن‌ها می‌شود که آثار مخرب احتمالی را بر سلامت انسان، سایر جانداران و همچنین محیط زیست وارد می‌کنند. فواید فناوری نانو دربرگیرنده بهبود روش‌های ساخت مواد، سیستم‌های تصفیه آب، سیستم‌های تولید انرژی، تولید مواد غذایی و پزشکی است. چنین محصولاتی دارای بازده بهتر بوده و سبب کاهش هزینه‌ها و نیاز کمتری به مواد انرژی می‌شوند، اما مانند هر تکنولوژی دیگری به منظور پیشگیری از آثار احتمالی این فناوری نوظهور بر روی محیط زیست و سلامت جانداران باید ارزیابی خطر آن صورت بگیرد. در سال ۲۰۰۳ دکتر ریچارد اسمالی برنده جایزه نوبل و بنیان گذار فناوری نانو نگرانی خود را از مساله ایمنی در این فناوری بدین شکل اعلام کرد: "پس از هر چیز، توصیه نمی‌کنم که از محصولات فناوری نانو بخورید." با این حال بازار غذا و فرآورده‌های غذایی فناوری نانو تخمین زده است که سرمایه گذاری در آن از دو میلیارد دلار به بیش از ۲۰ میلیارد دلار در سال ۲۰۱۰ رسیده است. فناوری نانو تمام فعالیت‌ها از پزشکی گرفته تا محیط زیست، مهندسی، زیست شناسی و حقوق را در بر می‌گیرد و مانند هر فناوری نوینی در مورد نانوتکنولوژی نیز باید ارزیابی و مدیریت خطر انجام پذیرد. خطر، عبارت است از امکان این که یک حادثه واقعی اتفاق بیافتد به علاوه نتایج اتفاق افتادن، اگر آن اتفاق حادث شود مثال: بمب اتمی و یا در مورد ساز واره‌های دست‌ورزی شده ژنتیکی، چون نمی‌توانیم نتایج آن را پیش بینی کنیم چاره‌ای جز رعایت اصول احتیاطی نداریم (ناصرزاده، ۱۳۹۲).

نانو تکنولوژی

نانوتکنولوژی عبارتست از دستکاری دقیق و کنترل شده ساختار اتمی یا مولوکولی مواد در مقیاس نانو به منظور تهیه ریز ذراتی با خصوصیات نوظهور و کاربردهای خاص. ذرات نانو عبارتند از ذرات اولیه‌ای که حداقل یکی از ابعاد آن‌ها کم‌تر از ۱۰۰ nm باشد (Donaldson *et al.*, 2005) بر حسب منبع تولید، ریز مواد را می‌توان در دو گروه مهم تقسیم نمود:

ریز ذراتی که به‌طور تصادفی یا ناخواسته تولید می‌شوند مانند ذرات احتراقی ناشی از موتورهای دیزلی. و ریز ذراتی که به‌طور غیر تصادفی و یا به دلخواه ساخته می‌شوند مانند نانوذرات تیتانیوم دی اکسید. امروزه ریزذرات گروه دوم که به‌طور دلخواه ساخته می‌شوند در عرصه‌های مختلف پزشکی، داروسازی، بیوتکنولوژی، تولید انرژی،

تاریخچه سم‌شناسی نانوذرات

مهندسی، حمل و نقل و الکترونیک کاربرد دارند (Karn *et al.*, 2005). نانوذرات می‌توانند از مواد مختلف و در شکل‌های مختلف مانند کروی، میله‌ای، سیمی و لوله‌ای ساخته شوند.

در سال ۲۰۰۴، دونالدسون و همکارانش نظریه جدیدی را به دنیای سم‌شناسی معرفی کردند: ذرات در اندازه نانو، رفتارشان نسبت به ذرات مشابه دانه درشت تر به حدی متفاوت است که زیرگروه جدیدی از علم سم شناسی را باید به بررسی آن‌ها اختصاص داد. ایشان نام این زیرگروه را سم‌شناسی نانو مواد گذاشتند. این عبارت در سال بعد در پژوهش‌های اوبردورستر و همکاران در مقاله‌ای به عنوان «سم شناسی نانومواد؛ علمی نوظهور در نتیجه بررسی ذرات ریز» از حمایت بیشتری برخوردار شد. از زمان انتشار نخستین مقاله دونالدسون و همکارانش، سم شناسی نانومواد به عنوان زمینه‌ای پژوهشی جایگاه ویژه خود را کسب کرده است. خطر تنفس ذرات دود یا بخارهای فلزی ریز میکروسکوپی از زمان‌های گذشته مورد بررسی قرار گرفته است. اما تنها از اواخر دهه ۱۹۸۰ است که محققان، بررسی ساختاری و نظام مند ابرهای اندازه ذره را در محدوده مقیاس نانومتر (در حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر) روی بهداشت و سلامت افراد آغاز کردند (حاجی قاسمخان، ۱۳۸۵). زمان زیادی پس از کشف نانو لوله‌های کربنی طول نکشید تا نگرانی‌هایی درباره مسائل و خطرهای احتمالی برای بهداشت و سلامتی افراد در اثر تنفس الیاف در اندازه نانو بوجود آمد دهه پس از ۱۹۹۰ دوره‌ای بود که دانش اپیدمیولوژی برای نخستین بار، روابط پنهانی تنفس ذرات بسیار ریز و بیماری‌های سیستم تنفسی و قلبی را کشف کرد، البته با این فرض که ذرات بسیار ریز در مقیاس نانومتر مسئول برخی از بیماری‌ها و پیامدهای مشاهده شده هستند. در سال ۲۰۰۴ انجمن سلطنتی و آکادمی سلطنتی مهندسی انگلستان گزارشی بسیار اثرگذار بر پیشرفت‌های آینده درباره فرصت‌ها و عدم اطمینان به زمینه‌های کاربردی فناوری نانو منتشر کردند. نگرانی اساسی که در این گزارش مطرح شده بود، مسئله نبود سندی درباره خطرهای نانوذرات م نانولوله‌ها برای سلامتی و بهداشت افراد بود که موجب ایجاد عدم اطمینان فراوانی نسبت به این فناوری شده است. فناوری نانو وابسته به استفاده و کاربرد ویژگی‌های وابسته به اندازه مواد در مقیاس نانومتر است که این ویژگی‌ها در برخی موارد شامل نمایان شدن اثرهای کوانتومی مخصوص نانوذرات است. نانوذرات می‌توانند رفتار بیولوژیکی بی‌نظیری از خود نشان دهند و حتی در زمانی که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نسبت به ذرات مشابه درشت تر بی تغییر باقی می‌مانند نیز می‌توان چنین رفتار بیولوژیکی متفاوتی را مشاهده کرد. برای مثال موادی هستند که اندازه ذره در مقیاس نانومتر به آن توانایی عبور و یا امکان غلبه بر سد هایی را می‌دهد که

است که توجه محققین را به خود جلب کرده است چراکه مقصد نهایی نانو مواد تولید شده، اکوسیستم های آبی است و این مواد احتمالاً بر موجودات زنده آبی تأثیرات نامطلوبی خواهند گذاشت (سالاری جو و همکاران، ۱۳۹۱). ماهیان شاخص های بسیار خوبی از سلامت محیط زیست بوده و حساسیت آن ها به طیف گسترده ای از مواد شیمیایی از جمله ترکیبات Xenobiotic بسیار زیاد است (Scown *et al.*, 2010).

Xenobiotic ترکیباتی هستند که در طبیعت وجود ندارند، بلکه به صورت شیمیایی ساخته شده و بنابراین برای زیست کره بیگانه بوده و بسته به سرنوشتشان در آب، هوا، خاک و رسوبات ممکن است در قسمت های مختلف طبیعت در دسترس موجودات زنده قرار گیرند، از جمله این مواد Xenobiotic، نانو مواد ساخت دست بشر می باشند (Prabhu and Poulose, 2012).

زیست آزمونی (Bioassay)

روشی است که عکس العمل های موجودات آبی برای آشکارسازی، اندازه گیری یا تأثیر یک یا چند ماده سمی یا عوامل محیطی به تنهایی یا توأم با یکدیگر را مورد بررسی قرار می دهند (Martins *et al.*, 2007). با استفاده از در معرض قرار دادن ارگانیسم ها در دوزهای مختلف آلوده کننده، زیست آزمونی برای ارزیابی اثرات سمیت آن ها انجام می گیرد که به وسیله پایش خصوصیات و رفتارهای بیولوژیکی این ارگانیسم ها و مقایسه آن ها با ارگانیسم هایی که هیچ گونه مواجهه ای با مواد آلوده کننده نداشته اند، امکان پذیر می باشد. این گونه روش ها خصوصاً در موارد آلودگی سریع یا انتشار یافته و آلاینده های با پتانسیل ایجاد مسمومیت حاد در انسان، بسیار مفید است (Navarro *et al.*, 2008).

ماهی زبرا

ماهی زبرا با نام علمی *Danio rerio* متعلق به خانواده Cyprinidea است. این ماهی دارای اسامی مترادفی مانند *Danio frankei* و *Brachydanio rerio* نیز می باشد. جایگاه آن در طبقه بندی موجودات زنده در جدول شماره ۱ آمده است. زیستگاه طبیعی این نوع از ماهیان، آب های شیرین مناطق گرمسیری گزارش شده است. شکل بدن ماهی زبرا، باریک و دراز بوده و دارای نوارهای طلایی و آبی رنگ است که در طول بدن و دم جاندار کشیده می شود. جنس های نر و ماده از هم جدا بوده و به راحتی قابل تشخیص هستند. بدن جنس ماده چاق تر، دارای برجستگی مشخصی در ناحیه شکم و نرها دارای بدنی دوکی شکل می باشند. این ماهیان در محدوده دمایی بین ۲۲ تا ۲۶ درجه سانتی گراد و در بازه pH بین ۶/۸ تا ۷/۵ زندگی می کنند. اندازه

برای درشت دانه تر نفوذ ناپذیر هستند. بررسی های انجام شده که بیانگر توانمندی و توانایی نانو ذرات در عبور از عصب بویایی و رسیدن به مغز جوندگان هستند مثال بی نظیری از رفتارهای بر پایه اندازه ذره است که پیش از این برای ذرات دانه درشت تر مشاهده نشده بود. اما با در نظر گرفتن این فرض که بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی در مقیاس نانو رخ می دهند، فرصت های بیشمار دیگری برای نانو ذرات مهندسی شده با اندازه دقیق وجود دارد تا با عملکردهای طبیعی بیولوژیکی تداخل کنند (ثنایی، ۱۳۸۵).

مکانیسم سمیت نانو ذرات

می توان انتظار داشت که اندازه بسیار کوچک نانو ذرات نقش مهمی در سمیت این مواد داشته باشد، به ویژه اگر اندازه این ذرات کوچک تر از ۱۰۰ nm با سایر اجزا بیولوژیکی بدن انسان مانند گلبول های قرمز ۷۰۰ nm مورد مقایسه قرار گیرد. نانو ذرات توانایی این را دارند که غشاء سلولی را پشت سر گذاشته و وارد سلول ها شوند (Tolstoshev, 2006) با استفاده از روش های میکروسکوپی انتقال الکترون TEM مشخص شده است که نانو ذرات اکسیدهای فلزی مانند ZnO, Y2O3, Fe2O5 می توانند وارد سلول های آندوتریال عروقی انسان شده و دوز انتقال یافته به درون سلول ها نیز متناسب به غلظت نانو ذرات در محیط کشت بوده است (Gojova *et al.*, 2007). علاوه بر این اندازه کوچک نانو ذرات می تواند به طور مستقیم باعث آسیب سلولی شود. مکانیسم های دفاعی بدن انسان و سایر موجودات ممکن است نتواند به طور مناسبی با این گونه مواد ریز مقابله کند.

به دلیل افزایش قابل ملاحظه سطح نسبت به جرم ماده، در مقیاس نانو مواد سمی تر هستند. به طور مثال یک نانو ذره کروی با شعاع ۵/۲ nm و دانسیته ۵ g/cm³ دارای سطحی برابر با ۲۴۰ m²/g خواهد بود. افزایش میزان سطح باعث افزایش فعالیت شیمیایی و در نتیجه خواص سمی آن ماده خواهد شد. ریز مواد در مقایسه با مواد اولیه خود بهتر می توانند در ارگانیسم های زنده حرکت کرده و جابه جا شوند. با در نظر گرفتن توانایی برخی از نانو ذرات برای انتقال داروها در بدن انسان، می توان انتظار داشت که نانو ذرات با مواد شیمیایی و آلاینده ها نیز باند شده و موجب انتقال این مواد سمی به نقاط مختلف بدن شوند. داشتن سطح پراثری و وجود نیروهای چسبندگی باعث می شود نانو ذرات نسبت به مولکول های کوچک مانند ذغال فعال عمل نمایند (Seaton, 2006).

Xenobiotic

انتشار نانو ذرات به محیط زندگی آبزیان از مشکلات جدید زیست محیطی به شمار می آید که باید مورد مطالعه قرار گیرد. در همین راستا نانو زیست سم شناسی آبزیان زمینه تحقیقاتی نسبتاً جدیدی

تقریبی آن‌ها ۵ سانتی متر است. ماهی زبرا به علت عادت پذیری خوبی که دارد از جمله ماهیان زینتی و آکواریومی محسوب می‌شوند و نگهداری آن‌ها آسان است.

چرخه طبیعی روشنایی و تاریکی بر زمان تخمک گذاری آن‌ها تأثیر زیادی دارد و با شروع زمان روشنایی تخمک گذاری آغاز می‌شود. وجود ماهی نر جهت انجام روند رشد و بلوغ این موجودات ضروری است. ماهی ماده اغلب طی ۲ الی ۳ روز، هزاران عدد تخم می‌گذارد و تخم‌ها به محض آزادشدن، مراحل رشد خود را طی می‌کنند، اما در نبود اسپرم، رشد در مراحل اولیه تقسیم جنینی متوقف می‌شود (Spence et al., 2008).

جدول ۱: طبقه بندی علمی ماهی *Danio rerio*

سلسله	Animalia
نژاد	Chordata
رده	Actinopterygii
راسته	Cypriniformes
خانواده	Cyprinidae
جنس	<i>Danio</i>
گونه	<i>D. rerio</i>

ماهی زبرا به عنوان مدل زیستی

ماهی زبرا در سال‌های اخیر به عنوان مدلی جهت آنالیز سریع عملکرد ژن‌ها و فعالیت‌های بیولوژیکی مولکول‌های آلی مطرح شده است (Zon, 2005). به علت شباهت‌های بالای ژنتیکی، فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی با انسان، این ماهی جهت تشخیص مواد طبیعی با پتانسیل‌های درمانی مختلف، بسیار مناسب به نظر می‌رسد. دلایل اولیه ای که سبب گسترش این مدل شده است، عبارت‌اند از اندازه کوچک لارو و جنین مورد آزمایش (۱ تا ۵ میلی‌متر بسته به مراحل رشد)، قدرت باروری بالای ماهی‌های بالغ (صدها بچه ماهی در یک بار جفت گیری طی یک هفته)، شفافیت جنین و لارو این ماهی (راحتی مشاهده ارگان‌ها و اعضاء داخلی ماهی زبرا) و سرعت در رشد خارج رحمی (تمام مراحل رشد از تخم تک سلولی تا لارو در خارج از رحم صورت می‌گیرد) و به این ترتیب امکان ردگیری اثرات مختلف ترکیبات مورد آزمایش امکان‌پذیر خواهد شد. نکته کلیدی دیگر در بررسی مولکول‌های فعال با استفاده از لارو و جنین این ماهی، امکان افزودن ترکیبات به صورت غیراستریل به محیط رشد آن‌ها است که سرعت انجام روندهای غربالگری را افزایش می‌دهد (Crawford et al., 2008).

استفاده از ماهی زبرا اولین بار در دهه ۱۹۷۰ توسط Streisinger و همکارانش به عنوان یک مدل ژنتیکی به اثبات رسید. از آن به بعد، این ماهی به صورت گسترده جهت ارزیابی‌های

ژنتیکی در آزمایشگاه‌های مختلف به کار گرفته شد (Streisinger et al., 1981). از سال‌ها قبل، ماهی زبرا به عنوان مدل درون تنی (*Angelica sinensis*) جهت کشف داروها به کار گرفته شد. مطالعات اولیه شامل استفاده از لارو و جنین این ماهی جهت ارزیابی ترکیبات شیمیایی و مواد طبیعی ویژه ای با توجه به اثر آن‌ها بر تقسیم و تمایز سلولی بوده است. در مجموع اغلب مطالعات دهه اخیر بر تشخیص و تعیین آلاینده‌های محیطی تعیین سمیت بر جنین و نقایص جنینی ایجادشده توسط تعداد زیادی از مواد طبیعی که توسط انسان‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد از قبیل انواع فلاونوئیدها، دلتا-۹ تتراهیدروکانابینول، ماده اصلی ایجادکننده توهّم در ماری جوانا و آرکولین تمرکز داشته‌اند (Abedi and Mckinley, 1967). این مدل تا به حال در موارد زیادی جهت ارزیابی‌های مختلف مواد طبیعی به کار برده شده است. در واقع لاروهای ماهی زبرا یک سیستم درون تن ایده‌آل برای بعضی از ارزیابی‌ها می‌باشند که در زیر تعدادی از آن‌ها اشاره می‌شود. از جمله خصوصیات ماهیان زینتی و آکواریومی، سازگاری بالا و پذیرش شرایط آکواریومی خوب و تکثیر مناسب و حتی بازماندگی بالا می‌باشد.

ماهی زبرا به یک سیستم مدل محبوب برای توسعه مهره‌داران و بیماری تبدیل شده است. این موفقیت در حال حاضر به کار و تلاش‌های George Streisinger و همکارانش بر می‌گردد (Walker et al., 1981). ماهی زبرا متعلق به آب‌های شیرین نواحی گرمسیری است. این ماهی جزء مهره‌داران است و در نتیجه از سهام ژنومی بالا، همسانی پروتئوم و از نظر متابولیک با سایر مهره‌داران دیگر شامل ۸۰ درصد همولوژی با ژنوم انسان برخوردار است (Lieschke and Currie, 2007).

ماهی زبرا می‌تواند بیشترین اطلاعات سیستم شبیه‌سازی سلول را فراهم کند. در مقایسه با سایر موجودات آزمایشگاهی ماهی زبرا دارای نوزادان زیاد است و هزینه‌های تولید و تعمیر و نگهداری نسبتاً کم است. در پاسخ با توجه به توصیه‌های جامعه علمی، موسسه ملی بهداشت (NIH) این ماهی به عنوان مدل زیستی برای مطالعه و بیماری معرفی شده است (Rasooly et al., 2003).

زبرا فیش تبدیل شده به یک مدل حیوانی محبوب برای درک بیماری، توسعه و سم‌شناسی در مهره‌داران. که همراه با سایر مهره‌داران از جمله انسان و موش می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را در اختیار دانشمندان قرار دهد. اندازه کوچک، تکثیر بالا، شفاف و باروری آسان باعث شده که نسبت به مطالعات بر روی انسان و موش بیشتر مقرون به صرفه باشد. مهره‌داران دارای اطلاعاتی مشابه بدن انسان هستند. باعث کار در شرایط آزمایشگاهی بر روی این مهره‌داران شده است. ما می‌توانیم مورفولوژی، رشد و نمو، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و ویژگی‌های رفتار و یا ناهنجاری‌های ماهی زبرا را با استفاده از انواع فنوتیپ به دست آوریم. می‌توان به

مطالعات اخیر نشان داده که به دلیل گستردگی محصولاتی که امروزه از نانوذرات نقره تولید می‌شود، رهایش و انتقال به محیط زیست آبی، بسیار محتمل است (Farkas et al., 2011).

این در حالی است که در میان تعداد زیادی از نانوذرات در دسترس، نانوذرات نقره از توجه و نگرانی خاص برای محیط زیست آبی برخوردار است چرا که نقره یونی، به عنوان یکی از مهم‌ترین فلزات سمی برای ماهی‌ها و دیگر جانداران آبی محسوب می‌شود که حتی در غلظت‌های بسیار پایین در حد میکروگرم بر لیتر کشنده می‌باشد (Davies et al., 1978). مطالعات اخیر نشان داده که نانوذرات نقره به عنوان منبع یون نقره عمل می‌کنند. همچنین نانو ذرات در موجودات آبی مانند صدف‌ها، سخت پوستان و ماهی‌ها نیز جذب و تجمع می‌یابد (Kashiwada, 2006). Griffitt و همکاران نشان دادند. میزان یون نقره در بدن ماهی زبرا (*Danio rerio*) پس از قرار گرفتن در معرض ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره، به میزان بسیار زیادی افزایش یافت. آزمایشات *In vivo* نشان دادند. نانوذرات نقره با اندازه میانگین ۲۰ نانومتر با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر، برای ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) کشنده می‌باشد و در غلظت‌های کمتر از آن باعث واکنش‌های بیومارکرهای تحت کشنده می‌شود. همچنین در مطالعه‌ای دیگر به صورت *In vivo*، عوارض جانبی نانو نقره بر ماهی زبرا (*Danio rerio*)، دافنی و دو گونه جلبک، گزارش شده است. (Griffitt et al., 2009). مقدار تولید نانو ذرات نقره در جهان حدود ۱۱ تن در سال تخمین زده شده است (Piccinno et al., 2012). از طرفی مقدار پیش بینی شده حضور نانو ذرات نقره در محیط زیست آبی، برابر ۰/۰۳ تا ۰/۳۲ میکروگرم در لیتر برآورد شده است (Batley et al., 2013). رفتار نانوذرات در محیط زیست آبی، تا حدود زیادی به خواص نانوذرات و شرایط زیست محیطی بستگی دارد؛ مانند خواص سطحی نانوذرات، خواص فیزیکی آن‌ها، قدرت یونی آن‌ها، PH محیط و حضور مواد آلی در محیط (Domingos et al., 2009). از آنجا که در آزمایشات مربوط به اثرات آلایندگی نانوذرات، در شرایط *In vivo*، کنترل تمام این شرایط بسیار دشوار می‌باشد لذا مطالعات اخیر بیشتر به سمت آزمایشات در شرایط *In vitro*، و به خصوص با استفاده از سلول‌های لاین (تیره‌های سلولی)، سوق یافته‌اند (Witsap et al., 2009). در رابطه با بررسی اثرات حضور نانوذرات نقره در اکوسیستم‌های آبی، می‌توان به مطالعات Asharani و همکاران در سال ۲۰۰۸ پرداخت که با بررسی اثرات فیزیولوژیک نانوذرات نقره بر ماهی گورخری متوجه شدند، سمیت این نانوذرات به شدت تحت تأثیر غلظتی که ماهیان در معرض آن قرار می‌گیرند، متغیر می‌باشد. اثرات نانوذرات نقره به صورت آدم، کاهش جریان خون مویرگی و در نهایت افزایش مرگ و میر جنین و لارو تازه هج شده ماهیان گورخری مشخص شده است (Asharani et al., 2008). جوهری و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که

آسانی دوران جنینی و سرعت رشد را در ماهی زبرا مشاهده کرد. دسترسی به جنین ماهی زبرا یکی از عواملی است که آن را به یک ابزار غربالگری قدرتمند در تجزیه و تحلیل شیمیایی، بیولوژیکی، فیزیکی تبدیل کرده است (GRC, 2011).

سمیت نانوذرات در زبرافیش

با گسترش روز افزون فن آوری نانو و کاربرد نانو مواد در زمینه‌های مختلف، نگرانی‌های زیادی در خصوص خطرهای احتمالی ناشی از رهایش این مواد به محیط زیست به وجود آمده است. آمار به دست آمده از مطالعه بازار در ۳۰ کشور جهان نشان می‌دهد که تعداد محصولات مصرفی انسان که در آن‌ها از نانو مواد استفاده شده است، تنها طی سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۱۳ بیش از ۳۰ برابر افزایش یافته است و پیش بینی می‌شود که این تعداد در سال‌های آینده نیز با روند سریعی افزایش یابد (Woodrow Wilson Database, 2013).

ورود عمدی یا تصادفی نانو مواد به بوم‌سازگان‌های آبی، ممکن است باعث تأثیرات نامطلوب این مواد بر زیست‌مندان آبی شود و به همین دلیل مطالعه این تأثیرات دارای اهمیت بسیار است. در همین رابطه، نانو سم‌شناسی آبیان (Aquatic Nanotoxicology) شامل بررسی اثرات سمی نانو مواد بر زیست‌مندان آبی اعم از باکتری‌های آبی، جلبک‌های تک‌سلولی و پرسلولی، پلانکتون‌های جانوری، نرم‌تنان، سخت‌پوستان دوزیستان، ماهی‌ها و غیره می‌باشد (جوهری، ۱۳۹۰). ماهی زبرا به دلیل داشتن ویژگی‌های بالا به عنوان یک مدل ارگانسیم ایده‌آل برای توان عملیاتی متوسط فنوتیپی استفاده می‌شود (Hill et al., 2005) اگرچه از این ماهی در تمام مراحل زندگی می‌توان به عنوان ابزار سم‌شناسی استفاده کرد مطالعات بیشتر بر روی توانایی جذب مولکول آب از طریق پوست و آبشش است. ولی بیشتر از جنین این ماهی به دلیل حساسیت بالای آن به مواد شیمیایی استفاده می‌شود. این ماهی می‌تواند شاخص خوبی برای پاسخ مواد سمی درونی باشد (Teraoka et al., 2003).

سمیت نانوذرات نقره در ماهی زبرا

استفاده از نانوذرات، در سطح جهان هر روزه در حال افزایش است ولی هنوز اطلاعات محدودی در مورد اثرات زیست محیطی آن‌ها، به ویژه برای موجودات آبی در دسترس است (Farkas et al., 2011). امروزه در محصولات گوناگونی مانند پارچه، تجهیزات پزشکی، دستگاه‌های نگهداری غذا، لوازم آرایشی و غیره از نانو ذرات نقره استفاده می‌شود (Cheng et al., 2004). این در حالی است که سرنوشت نانوذراتی که در حین تولید و یا استفاده از این محصولات در محیط زیست رها می‌شوند، نامعلوم باقی مانده است.

- terrestrial environments. Accounts of Chemical Research 46: 854-862.
- Crawford, A.D., Esguerra, C.V., Witte, P.A.M., 2008. Fishing for drugs from nature: zebrafish as a technology platform for natural product discovery. *Planta Medica*. 74: 624 – 32.
- Cheng, D., Yang, J., Zhao, Y., 2004. Antibacterial materials of silver nanoparticles application in medical appliances and appliances for daily use. *China Medical Equipment* 4: 26-32.
- Donaldson, K., Tran, L., Jimenez, L.A., Duffin, R., Newby, D.E., Mills, N., MacNee, W., Stone, V., 2005. Combustion-derived nanoparticles: A review of their toxicology following inhalation exposure. *Particle and Fibre Toxicology*. 2:10.
- Dooley, K., Zon, L.I., 2000. Zebrafish: A model system for the study of human disease. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 10, 252–256.
- Davies, P.H., Goettl, J.R., Smiley, J.R., 1978. Toxicity of silver to rainbow trout. *Water Research*, 12: 1113-1117.
- Domingos, R.F., Tufenskji, N., Wilkinson, K.J. 2009. Aggregation of titanium dioxide nanoparticles: role of fulvic acid. *Environmental Science and Technology*. 43: 1282-1286.
- Farkas, J., Christian, P., Gallego-Urrea, J.A., Roos, N., Hassellöv, M., Tollefsen, K.E., Thomas, K.V., 2011. Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill cells. *Aquatic Toxicology*. 101: 117-125.
- Gojova, A., Guo, B., Kota, R. S., Rutledge, J. C., Kennedy, I. M., and Barakat, A. I. 2007. Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metal oxide nanoparticles: Effects of particle composition. *Environmental Health Perspectives*, 115: 3, 403- 409.
- Griffitt, R.J., Hyndman, K., Denslow, N.D., Barber, D.S., 2009. Comparison of molecular and histological changes in zebra fish gills exposed to metallic nanoparticles. *Toxicological Sciences*. 107: 404-415.
- GRC, Genome Reference Consortium, 2011. Human, Mouse, Zebra fish: Genome Assemblies. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/assembly/grc>.
- Hill, A. J., Teraoka, H., Heideman, W., Peterson, R.E., 2005. *Toxicol Sci*. 86, 6.
- Johari, S.A., Sourinejad, I., Bärsch, N., Saed-Moocheshi, S., Kaseb, A., Nazdar, N., 2014b. Does physical production of nanoparticles reduce their ecotoxicity? A case of lower toxicity of AgNPs produced by laser ablation to zebrafish. *International Journal of Aquatic Biology*. 2(4): 188-192.
- Karn, B., Masciangioli, T., Zhang, W., Colvin, V., 2005. and Alivisatos, P. (Eds). *Nanotechnology and the Environment; Applications and*

روش های فیزیکی و شیمیایی تولید نانو ذرات نقره، بر سمیت آن ها در ماهی گورخری (*Danio rerio*) تأثیر دارد (Johari *et al.*, 2014).

سمیت نانوذرات در جنین زیرآ فیش

جنین ماهی زیرآ فیش به عنوان مدل برای سمیت تجربی و زیستی به علت رشد سریع خود استفاده شده است. به عنوان یک مدل پیش بینی ماهی ها می توانند برای برآورد نانوتوکسیکولوژی از ذرات فلزی و اکسید فلزی مورد استفاده قرار گیرند (Dooley and Zon, 2000).

نتیجه گیری

نقش ماهی زیرآ هم اکنون به طور قاطع به صورت یک روش تحقیقاتی قوی در بسیاری از عرصه های بیولوژی و همچنین کشف دارو به اثبات رسیده است. مطالعات نشان می دهند که ماهی زیرآ می تواند جایگزین مناسبی برای مطالعات آزمایشگاهی نانو توکسیکولوژی به جای انسان و موش باشد.

منابع

- حاجی قاسمخان، ع.، ۱۳۸۵. سم شناسی صنعتی، انتشارات نشر برای فردا، بخش مقدمه و تعاریف، صفحه ۱۰.
- جوهری، س. ع.، ۱۳۹۰. کاربرد نانوذرات نقره در کاهش عفونت های قارچی تخم در دوره انکوباسیون و اثرات احتمالی رهایش آن ها بر تغییرات برخی شاخص های فیزیولوژیکی و ژنومیک ماهی قزل آلا رنگین کمان. رساله دکترا، دانشگاه تربیت مدرس، ۵۲۲ ص.
- سالاری جو، ح.، کلباسی، م. ر.، جوهری، س. ع.، ۱۳۹۱. تأثیر شوری آب بر سمیت حاد نانوذرات کلئیدی در بچه ماهیان قزل آلا رنگین (*Oncorhynchus mykiss*) مجله بوم شناسی آبزیان. دوره چهارم، شماره ۳، صفحات ۳۴-۳۰.
- ثنایی، غ.، ۱۳۸۵. سم شناسی صنعتی، دانشگاه تهران، موسسه انتشارات و چاپ، ۱۳ اسفند.
- ناصرزاده، ی.، ۱۳۹۲. نانوتکنولوژی کاربردی، انتشارات نظری، ۲۳۲ صفحه.
- Abedi, Z.H., Mckinley, W.P., 1967. Bioassay of captan by zebrafish larvae. *Natur*. 216: 1327 – 2.
- Asharani, P.V., Wu, Y.L., Gong, Z., Valiyaveettil, S. 2008. Toxicity of silver nanoparticles in Zebrafish models. *Nanotechnol*. 19: 255102.
- Batley, G.E., Kirby, J.K., McLaughlin, M.J., 2013. Fate and risks of nanomaterials in aquatic and

- Seaton, A., 2006. Nanotechnology and the occupational physician. *Occupational Medicine*, 56: 312- 316.
- Spence, R., Gerlach, G., Lawrence, C., Smith, C., 2008. The behavior and ecology of the Zebra fish, *Danio rerio*. *Biological Rev.* 83 (1): 13-34.
- Streisinger, G., Walker, C., Dower, N., Knauber, D., Singer, F., 1981. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Nature*. 297: 293 – 6.
- Scown, T.M., Santos, E.M., Johnston, B.D., Gaiser, B., Baalousha, M., Mitov, S., Lead, J.R., Stone, V., Fernandes, T.F., Jepson, M., Aerle, R.V., Tyler, Ch.R., 2010. Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. *Toxicological Sciences*. 115(2): 521-534.
- Walker, C., Streisinger, G., Knauber, D., Singer, F., Dower, N., 1981. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*), *Nature*. 291: 293-296.
- Woodrow Wilson Database, 2013. Nanotechnology consumer product inventory (www.nanotechproject.org).
- Witsap, E., Kupferschmidt, N., Bengtsson, L., Hultenby, K., Smedman, C., Paulie, S., Garcia-Bennett, A.E., Fadeel, B., 2009. Efficient internalization of *Mesoporous silica* particles of different sizes by primary human macrophages without impairment of macrophage clearance of apoptotic or antibody-opsonized target cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 239: 306-319.
- Zon, L.I., Peterson, R.T., 2005. In vivo drug discovery in the Zebra fish. *Natural Review Drug Discovery*. 4: 35 – 44.
- Implications. American Chemical Society, Washington, DC.
- Kashiwada, S., 2006. Distribution of nanoparticles in the see-through medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Health Perspectives*. 114: 1697-1702.
- Lieschke, G.J., Currie, P.D., 2007. Animal models of human disease: zebra fish swim into view, *Nature Reviews Genetics*. 8. 353–367.
- Martins, J., Oliva, T.L., Vasconcelos, V., 2007. Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology. *Environ Int.* 33(3): 414-25.
- Navarro, E., Piccapietra, F., Wanger, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L., Behra, R., 2008. Toxicity of silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environment Science technology*. vol. 42(23): 8959-8964.
- Piccinno, F., Gottschalk, F., Seeger, S., Nowack, B., 2012. Industrial production quantities and uses of ten engineered nano materials for Europe and the world. *Journal of Nanoparticle Research* 14: 1109-1120.
- Prabhu, S., Poullose, E.K., 2012. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*. 2(32): DOI: 10.1186/2228-5326-2-32.
- Rasooly, R.S., Henken, D., Freeman, N., Tompkins, L., Badman, D., Briggs, J., Hewitt, A.T., 2003. Genetic and genomic tools for zebra fish research: The NIH zebra fish initiative, *Developmental Dynamics* .228: 490-496.
- Tolstoshev, A., 2006. Nanotechnology, Assessing the Environmental Risks for Australia, Earth Policy Centre, University of Melbourne, Australia.
- Teraoka, H., Dong, W., Hiraga, T., 2003. Congenital Anomalies, 43.123.