مقاله علمی – ترویجی

بررسی عملکرد مدل ماهی دانیوی گورخری (*Danio rerio*) در تحقیقات نانوسم‌شناسی با تأکید بر آسیب‌شناسی جنین

علیرضا رادخواه[۱]، سهیل ایگدری*[۱]

*soheil.eagderi@ut.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۰

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی عملکرد ماهی گورخری (*Danio rerio*) به عنوان مدل آسیب‌شناسی جنین در مطالعات نانوسم‌شناسی انجام گرفت. مرور منابع نشان داد که امکان مهار کامل تفریخ و مرگ جنین در هنگام مواجهه با نانومواد وجود دارد، زیرا نانوذرات با آنزیم‌های تفریخ ارتباط متقابل دارند. ناهنجاری رشد جنین ماهی گورخری توسط چندین محقق مورد مطالعه قرار گرفته است و اغلب رشد ناقص و تغییر شکل اعضای بدن گزارش شده است. علاوه‌براین، تحقیقات نشان داده‌اندکه نانوذرات موجب مرگ، تاخیر در تفریخ و بدشکلی و تأخیر در رشد می‌گردند. با این‌حال، برخی از پژوهشگران در بعضی از زمینه‌ها از جمله ارزیابی ناهنجاری‌های اسکلتی، استفاده از آزمون سمیت جنین ماهی گورخری (ZFET) را در مراحل ابتدایی حیات ماهی، مدل مناسبی نمی‌دانند. به طور کلی، استفاده از مدل ZFET امکان مطالعه بر اثرات تعداد بیشتری از نانومواد را فراهم می‌کند و می‌تواند مکانیسم‌های سمیت رشد را به‌خوبی نشان دهد. از این‌رو، این مدل می‌تواند به عنوان یک رویکرد مناسب در جهت ارزیابی اثرات ناشی از نانومواد مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: ماهی گورخری، ارگانیسم مدل، سم‌شناسی، آسیب‌شناسی جنین، تفریخ

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]

مقدمه

فناوری نانو به دلیل نیازها و کاربردهای نانومواد در بسیاری از زمینه‌ها از جمله صنعت، کشاورزی، تجارت، پزشکی و بهداشت مورد توجه عموم مردم قرار گرفته است (Borm *et al.*, 2006). طی سال‌های ۲۰۰۵-۱۹۹۷، سرمایه‌گذاری برای تحقیق و توسعه در بخش فناوری نانو از ۴۳۲ میلیون دلار به حدود ۴/۱ میلیارد دلار افزایش یافت و سرمایه‌گذاری‌های مربوط به این صنعت تا سال ۲۰۰۵ از سرمایه دولت‌ها فراتر رفت. تا سال ۲۰۱۵، محصولات حاوی فناوری نانو تقریباً ۱ تریلیون دلار به اقتصاد جهانی کمک کردند (Ray *et al.*, 2009). مجموع این موارد بیانگر اهمیت و توسعه روزافزون صنعت نانو در جامعه بشری می‌باشد.

علم نانو سم‌شناسی به مطالعه سمیت نانومواد می‌پردازد. سم‌شناسی نانومواد یک رشته نسبتاً جدید و در حال تحول است. اگرچه کاربردهای این رشته در حال افزایش است، اما نگرانی‌های زیادی در مورد تأثیرات زیست‌محیطی و بهداشتی آن نیز وجود دارد (رادخواه و همکاران، ۱۴۰۰). نانومواد به‌دلیل اثرات اندازه و نسبت سطح به حجم زیاد، خواص منحصربه‌فردی در مقایسه با نمونه‌های بزرگتر خود دارند که بر سمیت آنها تأثیر می‌گذارد (Buzea *et al.*, 2007). در تعداد زیادی از مطالعات انجام شده بر نانوذرات، نتایج متناقضی از سمیت این مواد ارائه کرده‌اند. این امر نشان می‌دهد که به رغم تلاش‌های مستمر، هنوز جامعه علمی در ارزیابی سم‌شناسی نانوذرات با چالش‌هایی مواجه است. برای مثال، در میان تحقیقات مطرح، تعداد زیادی از محققین، عدم سمیت نانوذرات طلا (AuNP) را تایید کرده‌اند که از جمله آنها می‌توان به پژوهش‌های Dobrovolskaia و McNeil (۲۰۰۷) و Tedesco و همکاران (۲۰۱۰) اشاره کرد. این در حالی است که در برخی دیگر از پژوهش‌ها (Pan و همکاران، ۲۰۰۷)، سمیت نانوذرات طلا مورد تایید قرار گرفته است. به رغم اینکه برخی از پژوهشگران در گزارش‌های خود، سمیت کم سایر ذرات مانند TiO_2-NPs را مطرح کردند، برخی دیگر از مطالعات نشان دادند که مواجهه در معرض غلظت بالای ذرات TiO_2 قادر به ایجاد تومور ریه پس از ۲ سال در نمونه‌های موش است (Lee *et al.*, 1985). علاوه‌براین، آژانس بین‌المللی تحقیقات در مورد سرطان[1] که موسوم به IARC می‌باشد، TiO_2 را به عنوان یک ماده سرطان‌زا برای انسان طبقه‌بندی کرده است (Brundo and Salvaggio, 2018). این یافته‌ها حاکی از این است که هنوز در مورد اثرات سمیت یا عدم سمیت نانومواد در بین محققان اختلاف نظرهایی وجود دارد (رادخواه و همکاران، ۱۳۹۹).

ماهی گورخری (*Danio rerio*) یک ماهی آب شیرین متعلق به خانواده Danionidae می‌باشد. این گونه بومی جنوب آسیا و یک ماهی آکواریومی محبوب است که اغلب با نام تجاری zebra danio فروخته می‌شود (Froese and Pauly, 2021). ماهی گورخری یک ارگانیسم مدل مهم و پرکاربرد در تحقیقات علمی است (Dahm and Geisler, 2006; Carpio and Estrada, 2006; White *et al.*, 2008; Van Wijk *et al.*, 2017). مزایای اصلی استفاده از این گونه به عنوان یک مدل سم‌شناسی نسبت به سایر گونه‌های مهره‌داران، از نظر اندازه، هزینه‌های پرورش و مورفولوژی اولیه است. اگرچه معمولاً در طبیعت، اندازه ماهی گورخری با توجه به تغییرات منطقه‌ای ۳/۷-۱/۸ سانتی‌متر می‌باشد، اما طول این ماهی می‌تواند به ۵-۴ سانتی‌متر نیز برسد (Arunachalam *et al.*, 2013). با این‌حال، به دلیل اندازه کوچک این ماهی در مقایسه با سایر ماهیان، فضای محیط نگهداری و هزینه‌های پرورش آن نیز تا حد زیادی کاهش می‌یابد (Hill *et al.*, 2005). از این‌رو، کاربرد گسترده ماهی گورخری به‌عنوان یک مدل رایج در مطالعات علمی مورد تایید قرار گرفته است (رادخواه و ایگدری، ۱۴۰۰).

بررسی سیر تغییرات در ماهیان همواره به عنوان یکی از نکات جالب در علم زیست‌شناسی مطرح بوده است و بسیاری از محققان درصدد بودند که تغییرات آسیب‌شناسی موجودات را از مراحل ابتدایی حیات مورد بررسی قرار دهند. ماهی گورخری با توجه به تولیدمثل کوتاهی که دارد می‌تواند به عنوان یک مدل برای نشان دادن آسیب‌های ناشی از سموم مورد استفاده قرار گیرد (Khan and Alhewairini, 2018). در حال حاضر، این ماهی به عنوان یک مدل مناسب برای مطالعات رشد، ژنتیک، ایمنولوژی، رفتارشناسی، فیزیولوژی و تغذیه مورد توجه قرار گرفته است (Teame *et al.*, 2019). از

[1] International Agency for Research on Cancer

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]

این‌رو، با توجه به کاربرد گسترده این ماهی در بسیاری از مطالعات سم‌شناسی، تحقیق حاضر با هدف ارزیابی کاربرد مدل ماهی گورخری (*Danio rerio*) در آسیب‌شناسی جنین به طور ویژه مطالعات نانوسم‌شناسی انجام شده است. در این پژوهش، کاربرد ماهی گورخری در آنالیزهای تفریخ، اختلالات رشد جنین و آسیب‌شناسی جنین مورد بررسی قرار گرفته است.

اثرات زیست‌محیطی نانومواد

جذب و سمیت

بیشتر مطالعات سم‌شناسی نانوذرات بر سلول‌های پستانداران انجام شده است. با این‌حال، تحقیقات قابل توجهی نیز در سال‌های اخیر بر آبزیان صورت گرفته است و این روند همچنان در حال فزونی است. نانوذرات می‌توانند از غشاء سلولی آبزیان عبور کنند و در آنها جذب شوند. میزان جذب بستگی به اندازه مواد دارد (Koziara *et al*., 2003). پس از اندازه نانوذرات، تجمع آنها در سلول‌ها، مهم‌ترین پارامترها در تعیین نرخ جذب است. در برخی از سلول‌های خاص، جذب سلولی نانوذرات با استفاده از اندوسیتوز یا فاگوسیتوز صورت می‌گیرد. نانوذرات در برخی از نقاط خاص سلول‌ها مانند میتوکندری ذخیره می‌شوند و می‌توانند واکنش‌های سمی ایجاد کنند (Taghavi *et al*., 2013; Wilson, 2018). مسمومیت نانوذرات به اندازه کوچک، سطح وسیع و توانایی آنها در تولید گونه‌های فعال اکسیژن مربوط می‌شود (رادخواه و همکاران، ۱۳۹۹، ۱۴۰۰). این مواد می‌توانند باعث ایجاد التهاب و فیبروز در موجودات چندسلولی شوند، این در حالی است که تاثیر اصلی آنها در موجودات تک‌سلولی خاصیت آنتی اکسیدانی و سمیت سلولی است (Taghavi *et al*., 2013).

تحقیقات سم‌شناسی نشان داده است که نانوذرات اثرات سمی بر موجودات آبزی تک‌سلولی و سایر آبزیان مانند ماهیان و دافنی‌ها دارند (Zhu *et al*., 2006). نانولوله‌های کربنی عامل محدودکننده رشد پروتیست‌ها هستند و اثرات سمی بر سیستم تنفسی ماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین کمان دارند. بر اساس مطالعه Templeton و همکاران (۲۰۰۶) نانولوله‌های کربنی و همه محصولات جانبی آنها، میزان مرگ و میر را در برخی از گونه‌های خرچنگ آب شیرین افزایش دادند. دافنی‌ها نانولوله‌های کربنی را به‌سادگی جذب می‌کنند و می‌توانند در غلظت‌های بالا اثرات سمی حاد ایجاد کنند (Taghavi *et al*., 2013). مجموع این گزارش‌ها نشان می‌دهد که با گسترش روزافزون تولید نانومواد و عدم مدیریت صحیح این بخش و رهاسازی این نوع از آلودگی به پیکره‌های آبی، اثرات زیان‌باری بر موجودات آبزی اعمال شده است که بالطبع، بازخوردهای آن در زندگی بشر امروز نیز انعکاس خواهد یافت (رادخواه و همکاران، ۱۴۰۰).

با توجه به اثرات زیست‌محیطی نانوذرات، توسعه مدل‌های جانوری برای ارزیابی سمیت و اثرات منفی این مواد امری غیرقابل انکار است. از این‌رو، تاکنون مدل‌های مختلف جانوری برای تحقق این هدف مورد استفاده قرار گرفته‌اند که یکی از مدل‌های رایج، ماهی گورخری (*Danio rerio*) می‌باشد.

ویژگی‌های زیست‌شناختی ماهی گورخری

ماهیان بالغ این گونه (شکل ۱) در نهرها، کانال‌ها، خندق‌ها و حوضچه‌ها ساکن هستند (رادخواه و ایگدری، ۱۴۰۰). در بسیاری از مطالعات، حضور این گونه در آبهای ایستا به‌ویژه مزارع برنج، گزارش شده است (Menon, 1999; Froese and Pauly, 2021). در زیستگاه‌های طبیعی، ماهی گورخری معمولاً در نزدیکی کف آب حضور دارد تا حمله شکارچیان را به‌حداقل برساند. از نظر عادات غذایی، ماهی گورخری به عنوان همه‌چیزخوار[1] طبقه‌بندی می‌شود و غذاهای متنوعی مصرف می‌کند (Teame *et al*., 2019). این گونه از کرم‌ها، سخت‌پوستان کوچک (Mills and Vevers, 1989) و لارو حشرات تغذیه می‌کند (Froese and Pauly, 2021). ماهیان بومی به طور متوسط ۳/۵ سال عمر می‌کنند و قدیمی‌ترین افراد تا ۵/۵ سال نیز زنده می‌مانند. تخم‌ریزی ماهی گورخری تحت تاثیر درجه حرارت صورت می‌گیرد و در شروع فصل بارندگی‌های موسمی آغاز می‌شود. در دسترس بودن غذا به عنوان فاکتور موثر برای پرورش این گونه و عاملی برای تمایز جنسی آن محسوب می‌شود (Lawrence *et al*., 2007). Lawrence و همکاران (۲۰۰۷) اظهار داشتند که فراوانی و مقدار غذا، قبل و در طول دوره تمایز غدد جنسی، منجر به تمایز بیشتر افراد برای تبدیل شدن به ماده می‌شود

[1] Euryphagous

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]

(Lawrence *et al.*, 2007). علاوه بر کاربرد ماهی گورخری در کنترل پشه‌ها، این گونه به عنوان یک ماهی آکواریومی محبوب در جهان نیز شناخته می‌شود (Valdesalici and Cellerino, 2003). نگهداری ماهی گورخری در محیط آکواریوم، در گروه‌های ۵ عضوی یا بیشتر صورت می‌گیرد و حداقل اندازه آن برای آکواریوم ۶۰ سانتی‌متر گزارش شده است (Froese and Pauly, 2021).

تولیدمثل ماهی گورخری

یک ماهی گورخری ماده می‌تواند در هر تخم‌ریزی صدها تخم تولید کند. با توجه به اینکه تخمک‌ها برای بارور شدن خارج از بدن آزاد می‌شوند، تولید این تعداد تخمک به بسیاری از فرزندان اجازه می‌دهد تا قبل از رسیدن به بزرگسالی حتی با مرگ برخی از آنها، از طریق فرآیند رشد زنده بمانند. تخم‌ها، با قطر حدود ۰/۷ میلی‌متر روی بستر رها می‌شوند و مراحل رشد را آغاز می‌کنند. اگرچه تخم‌های ماهی گورخری چسبنده نیستند و تمایل به رهاسازی در بستر آماده ندارند، اما تخم‌ها هنگامی که در آب رها می‌شوند، حتی در مواردی که به‌وسیله اسپرم ماهی نر بارور نشده باشند، فعال می‌شوند.

شکل ۱: ماهی گورخری (*Danio rerio*). (Fishipedia, 2021)

در شکل ۲ مراحل اصلی چرخه زندگی این گونه نشان داده شده است که شامل تخمک لقاح نیافته، جنین، مرحله لاروی، مرحله نوجوانی و بزرگسالی می‌باشد. هنگامی که تخم بارور می‌شود، زیگوت‌ها تشکیل می‌شوند. این پدیده ممکن است بلافاصله با تخمک‌گذاری (و لقاح) یا در مدت ۷۲ ساعت رخ دهد. پس از لقاح، تخمک در مرحله کلیواژ[1] تقسیم می‌شود. این مرحله ممکن است ۴۰ دقیقه الی ۲ ساعت طول بکشد. طی این مرحله، با انتقال جنین به مرحله بعدی، تقسیم سلولی ممکن است ۶۴-۱۶ سلول ایجاد شود (Microscope Master, 2021). در مرحله کلیواژ که در آن تقسیم سلولی صورت می‌گیرد، بلاستولا تشکیل می‌شود. این شکل جنین، شبیه یک توپ توخالی است و شامل لایه‌های زیادی از سلول‌هاست که حفره‌ای به نام بلاستوسل را احاطه کرده‌اند. مرحله بعدی توسعه و رشد، با عنوان گاسترولاسیون[2] شناخته می‌شود که در نهایت منجر به شکل‌گیری طرح بدن ارگانیسم می‌شود (D'Costa and Shepherd, 2009) درحالی‌که بلاستولاسیون[3] ۵-۲ ساعت پس از لقاح رخ می‌دهد، گاسترولاسیون ۱۰-۵ ساعت پس از لقاح صورت می‌گیرد. دو مرحله دیگر شامل تقسیم‌بندی[4] و مرحله فارینگولا[5] قبل از هچ انجام می‌گیرد. در این دو مرحله، ساختارهای ارگانیسم بیشتر رشد می‌کنند و سَر و دُم بارزتر و نمایان‌تر می‌شوند. این شرایط، فرزندان را برای تفریخ آماده می‌کند.

تفریخ ۷۲-۴۸ ساعت پس از لقاح رخ می‌دهد. با این‌حال، این پدیده تا حد زیادی به ضخامت کوریون (که در آن جنین قرار دارد) و نیز فعالیت عضلانی جنین بستگی دارد. با توجه به این عوامل، تفریخ برخی از جنین‌ها ممکن است به تأخیر بیفتد. اندازه لاروها پس از تفریخ حدود ۳ میلی‌متر است. لاروها به‌واسطه سلول‌های ترشحی[6] واقع در سطح سر و با استفاده از مواد مغذی زرده به سطوح سخت متصل می‌شوند. در مدت حدود ۳ روز، لارو تحت مورفوژنز[7] قرار می‌گیرد که با توسعه ساختارهای مختلف آناتومیک مشخص می‌شود. در اواخر مرحله لاروی (حدود ۷ روز پس از لقاح)، ارگانیسم قادر به شنا، حرکت دادن فک و حتی تغذیه از مواد غذایی مختلف است (Microscope Master, 2021).

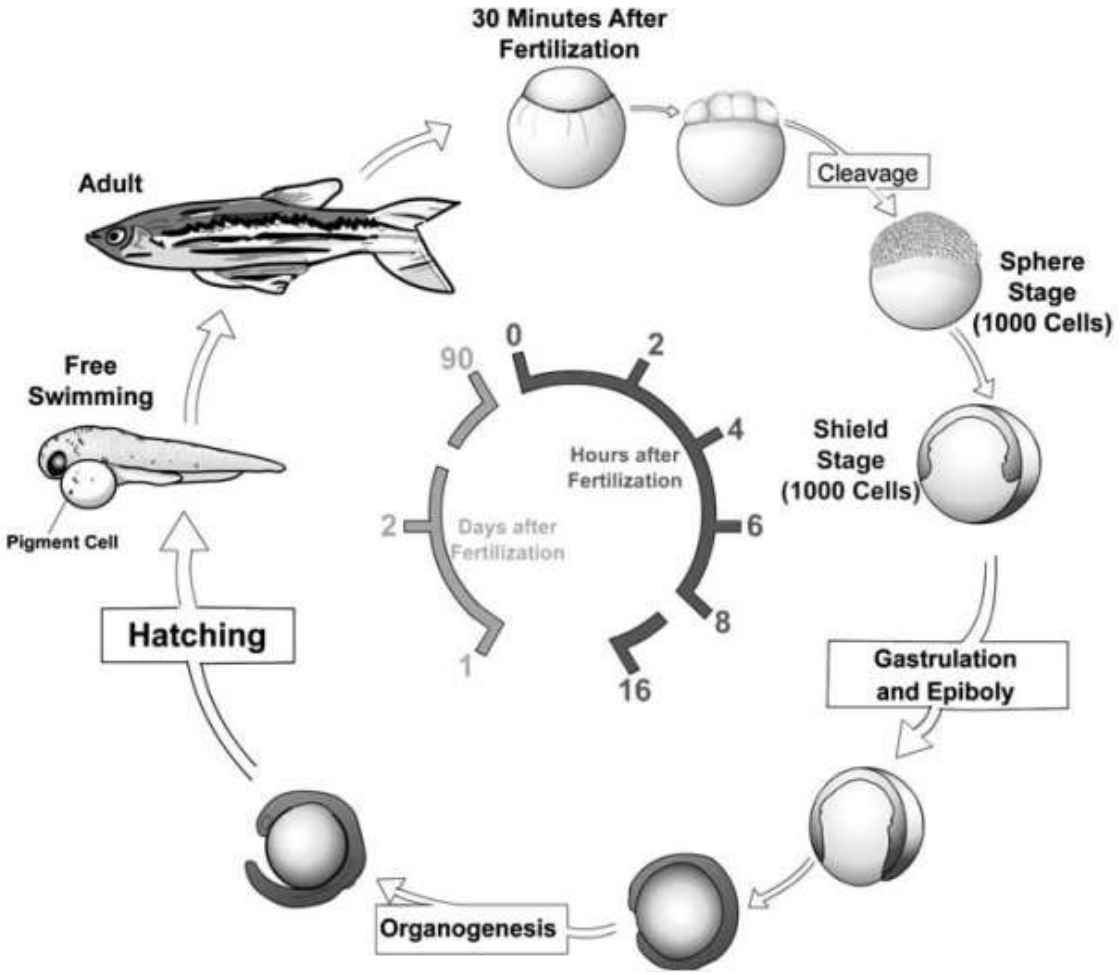
در مرحله نوجوانی (۱۰-۲ هفته) ارگانیسم قادر به مصرف موجودات کوچک مانند کرم‌های ریز است. بچه ماهیان نوجوان

[1] Cleavage phase
[2] Gastrulation
[3] Blastulation
[4] Segmentation
[5] Pharyngula stage
[6] Secretory cells
[7] Morphogenesis

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]

را می‌توان با ماهیان بالغی که در اواخر مرحله نوجوانی خود هستند، نگهداری کرد. این بچه‌ماهیان در حدود ۱۰ هفتگی به بلوغ می‌رسند. هنگامی که ماهیان بالغ می‌شوند، آماده تولیدمثل هستند و همچنان چرخه حیات ادامه می‌یابد (Microscope Master, 2021).



شکل ۲: چرخه تولید مثل ماهی گورخری (D'Costa and Shepherd, 2009)

آنالیز تفریخ

پارامترهای مربوط به تفریخ یکی از مسائلی است که در چندین مطالعه مورد توجه قرار گرفته است. از جمله مطالعات شاخص در این زمینه می‌توان به پژوهش‌های Samaee و همکاران (۲۰۱۵) و Ong و همکاران (۲۰۱۴) اشاره نمود. Samaee و همکاران (۲۰۱۵) از طریق ارزیابی موفقیت در تفریخ در رابطه با ساعت مواجهه، سمیت نانوذرات TiO_2 برای جنین ماهی گورخری را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، جنین ماهی گورخری که ۴ ساعت پس از لقاح آن گذشته بود، به مدت ۱۳۰ ساعت در معرض ۰، ۰/۰۱، ۱۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر انوذرات TiO_2 قرار گرفتند. میزان تفریخ برای هر غلظت آزمایش شده محاسبه شد. نتایج

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]

نشان داد که نانوذرات TiO_2 می‌تواند باعث تفریخ نارس در جنین ماهی گورخری شود. البته، این مسئله وابسته به دوز نیز می‌باشد. Ong و همکاران (۲۰۱۴) از نانوذرات سیلیکون، سلنید کادمیوم، نقره و روی و نیز نانولوله‌های کربنی تک‌جداره برای ارزیابی اثرات نانوذرات در ماهی گورخری تفریخ شده استفاده کردند. آنها گزارش کردند که امکان مهار کامل تفریخ و مرگ جنین هنگام مواجهه با نانوذرات وجود دارد. زیرا نانوذرات با آنزیم‌های تفریخ ارتباط متقابل دارند.

آزمایش سمیت جنین در ماهی گورخری

آزمایش سمیت جنین ماهی گورخری[1] (ZFET) یک آزمایش مدرن است. این آزمایش، یک روش جایگزین برای بررسی سمیت حاد است. زیرا با همان حساسیت سایر مدل‌ها و برخورداری از ویژگی‌های مهم مانند ساده‌تر بودن، اقتصادی بودن و اجرای سریع بر موجودات زنده انجام می‌شود (Embry, 2010). نکات و راهنمایی‌های لازم در مورد آزمون سمیت جنین ماهی در دستورالعمل‌های سازمان غذا و داروی آمریکا[2] (FDA) و شورای بین‌المللی داروسازی (ICH) برای محصولات دارویی و در دستورالعمل آژانس حفاظت از محیط‌زیست[3] (EPA) برای مواد شیمیایی درج شده است (OECD, 2013).

روش‌های ZFET یک ابزار تحقیقاتی است که امکان آزمایش بر تعداد بیشتری از ذرات نانو را فراهم می‌کند و این مدل برای بررسی مکانیسم‌های سمیت رشد به طور فزاینده‌ای مورد توجه قرار گرفته است. با این‌حال، اگر چنانچه محققان بخواهند ناهنجاری‌های رشد پس از ۹۶ ساعت پس از لقاح (hpf)، مانند ناهنجاری‌های اسکلتی را ارزیابی کنند، ZFET آزمون مناسبی نیست، زیرا فرآیند کلسیفیکاسیون در ماهی گورخری از هفتمین روز رشد شروع می‌شود (Brundo and Salvaggio, 2018).

Usenko و همکاران (۲۰۰۷) سمیت فولرن کربن (C_{60}، C_{70}) را در جنین ماهی گورخری ارزیابی کردند و ناهنجاری باله دمُی را در غلظت‌های ۲۰۰ ppb از C_{60} و C_{70} مشاهده کردند. همچنین تورم کیسه زرده، تورم پریکاردیال و ناهنجاری‌های باله سینه‌ای در غلظت‌های بیش از ۲۵۰۰ ppb از C_{60} مشاهده شد. علاوه‌براین، Usenko و همکاران (۲۰۰۷) تورم جنین در ماهی گورخری و تأخیر در رشد را در غلظت ۵۰۰۰ ppb از C_{60} گزارش کردند.

Xu و همکاران (۲۰۱۷) اثر CuO-NPs را در اوایل رشد ماهی گورخری مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که CuO-NP‌می‌تواند باعث ایجاد فنوتیپ‌های غیرطبیعی در سر و چشم و تاخیر در اپی بولی شود. الگوی بیان ژن نشان داد که CuO-NPبیان dlx3، ntl و hgg را که مربوط به مهاجرت سلولی گاسترولیشن[4] هستند، تغییر می‌دهد. این یافته‌ها نشان نشان داد که CuO-NPs باعث ایجاد سمیت رشد می‌شود.

Pecoraro و همکاران (۲۰۱۷) غشاهای نانوکامپوزیتی را که با استفاده از پلیمر نَفیون (Nafion) همراه با فیلرهای مختلف مانند نانوذرات TiO_2 از نوع آناتاز و اکسید گرافن تهیه شده بود، آزمایش کردند. عدم سمیت این نانوکامپوزیت‌ها، که قبلاً برای کاربردهای تصفیه آب موثر بوده است، با آزمایش تأثیر این مواد بر جنین ماهی گورخری بررسی شد. این مواد به عنوان نشانگرهای زیستی در معرض بیان هِم-اکسیژناز ۱[5] و سنتازهای اکسید نیتریک[6] ارزیابی شدند. آزمایش سمیت جنین نشان داد که نه مرگ و میر و نه اثرات کُشنده هنگام مواجهه با نانوذرات مختلف ایجاد نشدند. فقط لاروهای ماهی گورخری که در معرض نانوذرات قرار گرفته بودند، پاسخ متفاوتی به آنتی‌بادی‌های ضد هم-اکسیژناز ۱ و ضد سنتازهای اکسید نیتریک نشان دادند. در واقع، تجزیه و تحلیل ایمونوکالیزیشن[7]، افزایش سنتز در این نشانگرهای زیستی را نشان داد.

آنالیز آسیب‌شناسی در اندام‌های جنین

مطالعات کمی در مورد سمیت نانوذرات بر جنین بعد از ۹۶ ساعت پس از لقاح[8] (hpf) انجام شده است. ناهنجاری رشد جنین ماهی گورخری را چندین محقق مورد مطالعه قرار دادند و آنها توانستند رشد ناقص اعضای بدن، تغییر شکل اعضای

[1] Zebrafish embryo toxicity test
[2] U.S. Food and Drug Administration
[3] Environmental Protection Agency
[4] Gastrulation
[5] Heme-oxygenase 1
[6] Nitric oxide synthases
[7] Immunolocalization
[8] h postfertilization

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]

بدن یا عدم رنگدانه را با هم مرتبط کنند. Zhu و همکاران (۲۰۰۶) یکی از اولین مطالعات در مورد سمیت رشد ماهیان ناشی از نانوذرات اکسید آهن در محیط‌های آبی را انجام دادند. آنها برای بررسی اثرات اکولوژیک نانوذرات اکسید آهن بر موجودات آبزی، از مراحل اولیه زندگی ماهی گورخری (*D. rerio*) برای بررسی چنین تأثیراتی بر رشد جنینی استفاده کردند. نتایج نشان داد که ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید آهن باعث ایجاد سمیت رشد در این جنین‌ها می‌شود و موجب مرگ، تاخیر در تفریخ و بدشکلی نیز می‌گردد.

Pecoraro و همکاران (۲۰۱۷) یک مطالعه در مورد اثرات سو نانوذرات نقره (AgNPs) در افراد بالغ ماهی گورخری انجام دادند. در این مطالعه، ماهیان در معرض افزایش غلظت (۸، ۴۵، ۷۰ میکروگرم در لیتر) نانوذرات نقره قرار گرفتند. این محققان تجمع زیستی نانوذرات نقره را ارزیابی کردند و تغییرات بافت‌شناسی، نشانگرهای زیستی آسیب اکسیداتیو و بیان ژن در بافت‌های روده، کبد و آبشش ماهی گورخری تحت تیمار با AgNP را مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند. یافته‌های بافت‌شناسی بیانگر ایجاد تغییرات در لاملاهای ثانویه آبشش‌ها بود که با درجات مختلف سمیت مانند هایپرپلازی، هم‌جوشی لاملا، تورم زیر اپیتلیال و حتی در بعضی موارد، تلانژکتازی مشاهده شد. وجود نکروز بزرگ در پُرزهای روده مشاهده شد. با این‌حال، هیچ ضایعه‌ای در کبد تشخیص داده نشد. آنالیزها بیان بالایی از متالوتیونین ۱ (MTs 1) را در ماهیانی که در معرض نانوذرات نقره در مقایسه با گروه کنترل قرار داشتند، نشان داد. تجزیه و تحلیل‌ها نشان داد که مقدار ذرات جذب شده در تمام نمونه‌های تیمار شده تقریباً یکسان است. Pecoraro و همکاران (۲۰۱۷) تأیید کردند که سمیت نانوذرات نقره (AgNP) بیشتر از غلظت، به اندازه و حالت تجمع آنها مرتبط است. آنها بیان کردند که نانوذرات نقره به دلیل اندازه کوچکی که دارند، قادر به عبور از سد مخاط هستند. بنابراین، این مواد می‌توانند به آبشش‌ها و امعاء و احشاء (دستگاه گوارش) آسیب برسانند.

Pereira و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی اثرات جنینی و تراتوژنیک نانومواد (NMs) بر ماهی گورخرماهی پرداختند. در این مطالعه، تغییرات مورفولوژیک در جنین ماهی گورخر تحت تاثیر نانومواد در چهار مدل واکنش طبقه بندی شد. نتایج نشان داد که تداخل و تجمع زیستی نانومواد بر جنین ماهی گورخرماهی با چندین اثر سمی همراه است درحالی‌که روند سم زدایی محدود است. به طور کلی، نانومواد باعث تاخیر در تخم ریزی، تغییرات گردش خون، رنگدانه و تغییرات بافتی، اختلالات اسکلتی عضلانی و تغییرات کیسه زرده در جنین ماهی گورخرماهی می‌شوند. در مجموع، این تحقیق استفاده از ZET را به عنوان یک رویکرد مناسب برای ارزیابی خطرات ناشی از مواجهه با نانومواد تقویت نمود و نشان داد که ZET یک آزمایش عالی برای ارزیابی سمیت نانومواد است.

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر نشان داد که مواجهه نانوذرات بر جنین ماهی گورخری اغلب باعث ناهنجاری‌های رشد مانند رشد ناقص و تغییر شکل اعضای بدن می‌شود. با این‌حال، در موارد شدید، تأخیر در تفریخ و رشد و حتی مرگ و میر نیز گزارش شده است. با توجه به این موضوع، استفاده از مدل ZFET می‌تواند در راستای تاثیر نانومواد بر جنین یا ارگانیسمی که در مراحل ابتدایی حیات قرار دارد، مورد استفاده قرار گیرد، زیرا این مدل امکان مطالعه بر اثرات تعداد بیشتری از نانومواد را فراهم می‌کند و می‌تواند مکانیسم‌های سمیت رشد را به‌خوبی نشان دهد. با این‌حال، برخی از محققان در مورد بعضی از زمینه‌ها از جمله ارزیابی ناهنجاری‌های اسکلتی، استفاده از ZFET را در مراحل ابتدایی حیات ماهی، مدل مناسبی نمی‌دانند. از این‌رو، لازم است که مطالعات تکمیلی بیشتری در این زمینه انجام گیرد تا زوایا و جنبه‌های مختلف این مدل آشکار گردد.

منابع

رادخواه، ع.ر.، ایگدری، س. و صادقی‌نژاد ماسوله، ا.، ۱۳۹۹. بررسی خواص ضد میکروبی نانوذرات نقره (AgNPs) به‌منظور کنترل بیماری‌ها و مدیریت بهداشت در سیستم‌های آبزی‌پروری. مجله آبزیان زینتی، دوره ۷، شماره ۱، صص ۱۵-۷.

رادخواه، ع.ر. و ایگدری، س.، ۱۴۰۰. بررسی اهمیت و جایگاه ماهی گورخری (*Danio rerio*) به‌عنوان یک مدل جدید در تحقیقات نانوتوکسیکولوژی. مجله زیست‌شناسی ایران، در نوبت چاپ.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]

رادخواه، ع.ر.، ایگدری، س. و موسوی ثابت، ح.، ۱۴۰۰. مروری بر فواید و مضرات فناوری نانو در صنعت آبزی‌پروری. مجله آبزیان زینتی، دوره ۸، شماره ۲، سس ۵۸-۴۳.

Arunachalam, M., Raja, M., Vijayakumar, C., Malaiammal, P. and Mayden, R.L., 2013. Natural history of zebrafish (*Danio rerio*) in India. Zebrafish, 10(1): 1-14. DOI: 10.1089/zeb.2012.0803.

Borm, P.J.A., Robbins, D. and Haubold, S., 2006. The potential risks of nanomaterials: A review carried out for ECETOC. Particle and Fibre Toxicology, 3: 11–35.

Brundo, M.V. and Salvaggio, A., 2018. Zebrafish or Danio rerio: A New Model in Nanotoxicology Study, Recent Advances in Zebrafish Researches, Yusuf Bozkurt, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.74834. Retrieved from https://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-zebrafish-researches/zebrafish-or-danio-rerio-a-new-model-in-nanotoxicology-study.

Buzea, C., Pacheco, I.I. and Robbie, K., 2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. Biointerphases, 2(4): 17-71. DOI:10.1116/1.2815690.

Carpio, Y. and Estrada, M.P., 2006. Zebrafish as a genetic model organism. Biotecnologia Aplicada, 23: 265-270.

D'Costa, A. and Shepherd, I.T., 2009. Zebrafish development and genetics: introducing undergraduates to developmental biology and genetics in a large introductory laboratory class. Zebrafish, 6(2): 169-177. DOI: 10.1089/zeb.2008.0562

Dahm, R. and Geisler, R., 2006. Learning from small fry: The zebrafish as a genetic model organism for aquaculture fish species. Marine Biotechnology, 8(4): 329-345.

Dobrovolskaia, M.A. and McNeil, S.E., 2007. Immunological properties of engineered nanomaterials. Nature Nanotechnology, 2: 469-478.

Froese, R. and Pauly, D., (Eds) 2021. FishBase. World wide web electronic publication. Retrieved from www.fishbase.org, (06/2021). Accessed 28 August, 2021.

Hill, A.J., Teraoka, H., Heideman, W., Peterson, R.E., 2005. Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. Toxicological Sciences, 86(1): 6-19, DOI: 10.1093/toxsci/kfi110

Khan, F.R. and Alhewairini, S.S., 2018. Zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism, current trends in cancer management, Liliana Streba, Dan Ionut Gheonea and Michael Schenker, IntechOpen, Retrieved from https://www.intechopen.com/chapters/64178. Accessed 27 November, 2018. DOI: 10.5772/intechopen.81517.

Koziara, J.M., Lockman, P.R., Allen, D.D. and Mumper, R.J., 2003. In situ blood brain barrier transport of nanoparticles. Pharmaceutical Research, 20: 1772-1778.

Lawrence, C., Ebersole, J.P. and Kesseli, R.V., 2007. Rapid growth and out-crossing promote female development in zebrafish (*Danio rerio*). Environmental Biology of Fishes, 81: 239–246. DOI: 10.1007/s10641-007-9195-8.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]

Lee, K.P., Trochimowicz, H.J. and Reinhardt, C.F., 1985. Pulmonary response of rats exposed to titanium dioxide (TiO_2) by inhalation for two years. Toxicology and Applied Pharmacology, 79: 179-192.

Menon, A.G.K., 1999. Check list - fresh water fishes of India. Records of the Zoological Survey of India, Miscellaneous Publication, Occasional Paper No. 175, 366 p.

Microscope Master, 2021. Zebrafish: characteristics, life cycle, development, genome research. Retrieved from https://www.microscopemaster.com/zebrafish.html. Accessed 8 September, 2021.

Mills, D. and Vevers, G., 1989. The Tetra encyclopedia of freshwater tropical aquarium fishes. Tetra Press, New Jersey, USA, 208 p.

OECD, 2013. Guideline for the testing of chemicals. Paris, France: Fish Embryo Toxicity (FET), 22 p.

Ong, K.J., Zhao, X., Thistle, M.E., Mac Cormack, T.J., Clark, R.J, Ma, G., Martinez-Rubi, Y., Simard, B., Loo, J.S.C., Veinot, J.C.G. and Goss, G.G., 2014. Mechanistic insights into the effect of nanoparticles on zebrafish hatch. Nanotoxicology, 8: 295-304.

Pan, Y., Neuss, S., Leifert, A., Fischler, M., Wen, F., Simon, U., Schmid, G., Brandau, W. and Jahnen-Dechent, W., 2007. Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles. Small, 3: 1941-1949.

Pecoraro, R., Marino, F., Salvaggio, A., Capparucci, F., Di Caro G., Iaria, C., Salvo, A., Rotondo, A., Tibullo, D., Guerriero, G., Scalisi, E.M., Zimbone, M., Impellizzeri, G. and Brundo, M.V., 2017. Evaluation of chronic nanosilver toxicity to adult zebrafish. Frontiers in Physiology, 14(8): 1011. DOI: 10.3389/fphys.2017.01011.eCollection 2017.

Pereira, A.C., Gomes, T., Ferreira Machado, M.R. and Lopes Rocha, T., 2019. The zebrafish embryotoxicity test (ZET) for nanotoxicity assessment: from morphological to molecular approach. Environmental Pollution, 252: 1841-1853.

Ray, P.C., Yu, H. and Fu, P.P., 2009. Toxicity and environmental risks of nanomaterials: challenges and future needs. Journal of environmental science and health. Part C, Environmental carcinogenesis and ecotoxicology reviews, 27(1): 1-35. DOI: 10.1080/10590500802708267

Samaee, S.M., Rabbani, S., Jovanovic, B., Mohajeri-Tehrani, M.R. and Haghpanah, V., 2015. Efficacy of the hatching event in assessing the embryo toxicity of the nano-sized TiO_2 particles in zebrafish: A comparison between two different classes of hatching-derived variables. Ecotoxicology and Environmental Safety, 116: 121-128.

Taghavi, S.M., Momenpour, M., Azarian, M., Ahmadian, M., Souri, F., Taghavi, S. A., Sadeghain, M. and Karchani, M., 2013. Effects of nanoparticles on the environment and outdoor workplaces. Electronic physician, 5(4): 706-712.

Teame, T., Zhang, Z., Ran, C., Zhang, H., Yang, Y., Ding, Q., Xie, M., Gao, C., Ye, Y., Duan, M. and Zhou, Z., 2019. The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]

Animal Frontiers, 9(3): 68-77. DOI: 10.1093/af/vfz020.

Tedesco, S., Doyle, H., Blasco, J., Redmond, G. and Sheehan, D., 2010. Oxidative stress and toxicity of gold nanoparticles in Mytilus edulis. Aquatic Toxicology, 100: 178-186.

Templeton, R.C., Ferguson, P.L., Washburn, K.M., Scrivens, W.A. and Chandler, G.T., 2006. Life-cycle effects of single-walled carbon nanotubes (SWNTs) on an estuarine meiobenthic copepod. Environmental Science and Technology, 40: 7387-7393.

Usenko, C.Y., Harper, S.L. and Tanguay, R.L., 2007. In vivo evaluation of carbon fullerene toxicity using embryonic zebrafish. Carbon, 45: 1891-1898.

Valdesalici, S. and Cellerino, A., 2003. Extremely short lifespan in the annual fish *Nothobranchius furzeri*. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 270(2): 189-191.

Van Wijk, R.C,, Krekels, E.H., Hankemeier, T., Spaink, H.P. and Van der Graaf, P.H., 2017. Systems pharmacology of hepatic metabolism in zebrafish larvae. Drug Discovery Today: Disease Models, 22: 27-34.

White, R.M., Sessa, A., Burke, C., Bowman, T., LeBlanc, J., Ceol, C., Bourque, C., Dovey, M., Goessling, W., Burns, C.E. and Zon, L.I., 2008. Transparent adult zebrafish as a tool for in vivo transplantation analysis. Cell Stem, 2(2): 183-189.

Wilson, N., 2018. Nanoparticles: Environmental Problems or Problem Solvers?, BioScience, 68(4): 241-246. DOI: 10.1093/biosci/biy015

Xu, J., Zhang, Q., Li, X., Zhan, S., Wang, L. and Chen, D., 2017. The effects of copper oxide nanoparticles on dorsoventral patterning, convergent extension, and neural and cardiac development of zebrafish. Aquatic Toxicology, 188: 130-137.

Zhu, Y., Zhao, Q., Li, Y., Cai, X. and Li, W., 2006. The interaction and toxicity of multi-walled carbon nanotubes. Nanotechnology, 6: 1357-1364.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]
[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]

Evaluation of of the performance of the zebrafish (*Danio rerio*) model in nanotoxicology studies with emphasis on embryo pathology

Radkhah A.R.[1]; Eagderi S.[1*]

[*]soheil.eagderi@ut.ac.ir

1-Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

Abstract

The present study was conducted to evaluate the performance of zebrafish (*Danio rerio*) as a model in embryo and fetal pathology in nanotoxicology studies. Examination of the sources showed that it is possible to completely inhibit hatching and fetal death when exposed to nanoparticles, because nanoparticles interact with hatching enzymes. Zebrafish embryo developmental abnormalities have been studied by several researchers, and incomplete growth and deformity of organs have often been reported. It has also been shown that nanoparticles cause death, delayed hatching and deformation, and growth retardation. However, some researchers in some cases, such as the assessment of skeletal abnormalities, do not consider the use of ZFET as an appropriate model in the early stages of fish life. In general, the use of the ZFET model makes it possible to study the effects of more nanomaterials, and in addition, this model can well show the mechanisms of growth toxicity. Therefore, this model can be used as a suitable approach to evaluate the effects of nanomaterials.

Keywords: Zebrafish, Model organism, Toxicology, Fetal pathology, Hatching

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2025-08-20]

[DOR: 20.1001.1.24234575.1400.8.4.1.1]