**ÁREA TEMÁTICA: ZOOLOGIA APLICADA**

**SUBÁREA TEMÁTICA: NÃO SE APLICA**

**ENSAIO DE TOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS COM MODELO IN VIVO O ZEBRAFISH: ESTADO DA ARTE**

Virgínnia Camilly Feitosa Vieira¹, Thiago Guilherme Gonzaga Silva Jesus²

¹ ² Discente do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Centro Acadêmico de Vitória. E-mail: virginnia.vieira@ufpe.br

**INTRODUÇÃO**

De acordo com as definições da International Organization for Standardization, partículas com um diâmetro entre 1 e 100 nm ou fibras abrangendo o intervalo de 1 a 100 nm são denominadas nanopartículas (NPs) (Horikoshi e Serpone, 2013). Na última década, a síntese, análise e aplicação de nanopartículas cresceu exponencialmente, tornando-se uma área ativa de intensa inovação (De Crozals, Bonnet, Farre e Chaix, 2016). Avanços recentes permitem a síntese de partículas nanométricas com múltiplas propriedades, denominadas nanopartículas multifuncionais, que incluem nanopartículas metálicas e de óxidos metálicos, fulerenos, nanotubos de carbono, nanopolímeros e materiais cristalinos (McNamara e Tofail, 2013)

Diversas aplicações de NPs estão sendo utilizadas, seja na indústria, como aditivos químicos; seja na área biomédica, na utilização de biossensores para ácidos nucleicos, metabólitos, proteínas e etc, impulsionando o desenvolvimento nessas áreas (Das, Mitra, Khurana e Debnath, 2013). No entanto, cada vez mais, seu uso se estende para a criação de superfícies e membranas funcionais, com propriedades como proteção catalítica, antimicrobiana, contra raios UV, filtração e muitas outras (Stark, Stoessel, Wohlleben e Hafner, 2015).

Embora as linhagens celulares e os organismos simples sejam úteis para estudos de toxicidade em nível celular, os vertebrados superiores são essenciais para detectar interações fisiológicas complexas. Assim, modelos pequenos e de baixo custo são altamente atrativos para a avaliação da nanotoxicidade *in vivo*, sendo o *peixe-zebra* uma alternativa atraente, eficiente e econômica (Chakraborty e Agoramoorthy, 2010).

O zebrafish (*Danio rerio*) é amplamente utilizado como modelo de vertebrados para estudos de desenvolvimento e doenças (Haffter et al.,1996). Sua utilização em pesquisas pré-clínicas e toxicológicas tem crescido devido a diversas vantagens (Dooley e Zon, 2000). O peixe-zebra é econômico, devido ao seu tamanho pequeno, e requer quantidades menores de agentes para testes (Strahle *et al.,* 2012). Sua alta taxa de fecundidade, com uma única fêmea capaz de produzir cerca de 300 ovos, também contribui para sua eficiência como modelo (Ribas e Piferrer, 2014).

Além disso, o genoma do *zebrafish* possui cerca de 70% de similaridade com o genoma humano. Há uma boa conservação dos principais processos de desenvolvimento e fisiológicos entre as duas espécies, com sistemas de órgãos-chave semelhantes aos humanos (Kettleborough et al., 2013). Isso permite uma resposta semelhante a agentes farmacológicos, com muitos modelos de *zebrafish* mimetizando doenças humanas geneticamente e fenotípicamente. Essas características tornam o *zebrafish* um modelo versátil para uma ampla variedade de aplicações toxicológicas ao longo de sua vida útil.

Assim, este trabalho tem o objetivo de realizar uma análise bibliográfica sobre os principais teste de toxicidade utilizando o *zebrafish* como modelo, descrevendo a toxicidade de nanopartículas em vários níveis, além de fornecer uma visão geral dos estudos que utilizam este modelo para avaliar a toxicidade de alguns metais e nanopartículas à base de carbono.

**MATERIAL E MÉTODOS**

Trata-se de um estudo de revisão de caráter transversal relacionado a aplicação de nanopartículas utilizando o *zebrafish* como modelo *in vivo* para testes de toxicidade. Esse trabalho se patenteou na definição da questão norteadora e objetivos da pesquisa; estabelecimento dos critérios de inclusão e exclusão das publicações; busca na literatura nos bancos de dados através das palavras-chaves escolhidas; análise dos estudos; apresentação e discussão dos resultados obtidos.

O estudo foi realizado considerando publicações disponíveis nas bases de dados eletrônicas da Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA (PubMed), Clinical Trials, ScienceDirect, Scientific Electronic Library Online (SciElo) para identificar e selecionar artigos publicados que abordam a utilização de *zebrafish* como modelo *in vivo* para avaliação da toxicidade de nanopartículas. Os descritores utilizados foram: zebrafish, toxicity, nanoparticles e nanotechnology. A pesquisa foi realizada com o cruzamento desses termos.

Os critérios de inclusão, foram incluídos artigos completos, publicação no ano de 2012 até o ano de 2022, que versem sobre ensaios de toxicidade utilizando o *zebrafish* como modelo *in vivo*, artigos que abordam sobre os principais produtos nanoparticulados empregados no ensaio de toxicidade utilizando *zebrafish* como modelo. Quanto aos critérios de exclusão, foram excluídos artigos disponíveis apenas em resumo, artigos de revisões, como também estudos que embora falassem sobre o *zebrafish* não abordaram sobre teste de toxicidade e nanopartículas.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Geffroy et al. (2012) observou que as nanopartículas de ouro (NPs Au) provocaram uma variedade de disfunções celulares, bem como alterações no genoma em *peixes-zebras* adultos que dependiam do tamanho, concentração e tempo de exposição. Em consonância a isto, a exposição crônica do *peixe-zebra* a sedimentos contendo NPs Au também resultou na modificação do genoma em vários tecidos adultos, relacionada ao aumento do estresse oxidativo. Além disso, verificou-se que as NPs Au se acumulam dentro dos tecidos, sugerindo o potencial de maior toxicidade em comparação com o Au iônico.

As nanopartículas de prata também foram altamente estudadas em seus amplos aspectos. Yoo et al. (2016) verificou que durante o desenvolvimento inicial do peixe-zebra, a sua exposição a NPs, veio a provocar diversos efeitos toxicológicos. Dentre eles, danos celulares, aumento na frequência cardíaca, nas taxas de mortalidade e na teratogenicidade. Outro estudo realizado por Xia et al. (2016) veio a demonstrar que baixas concentrações de NPs Ag entre 10-20 nm vieram a impactar minimamente no desenvolvimento embrionário, porém, em concentrações mais elevadas, ocasionou-se efeitos no desenvolvimento da mesoderme e ectoderme.

 Também, a utilização de Pontos Quânticos têm sido amplamente aplicados no âmbito das ciências biológicas e médicas, devido às suas dimensões diminutas e fluorescência intensa, caracterizada por um espectro abrangente de absorção e sua elevada fotoestabilidade. Segundo abordagens trazidas por Lee et al. (2013).

As nanopartículas de óxido de metal, com ênfase nos baseados em dióxido de titânio, encontram aplicação abrangente para diversos fins de uso pessoal. No que se refere à baixa exposição de embriões de peixe-zebra a dióxido de titânio, Wang et al. (2014), constatou que o principal efeito das NPs de dióxido de titânio vem a ser a neurotoxicidade, sendo capaz, mesmo em baixos níveis, a causar impactos neuro-embrionários. Além disso, nanopartículas à base de carbono, de acordo com Kumar e colaboradores (2013), têm sido vistas como propícias, quando comparadas a outras NPs, pois possuem níveis de toxicidades reduzidas. Os diferentes níveis de toxicidade em NPs de Carbono, vem sido avaliados por meio da análise em *zebrafish* como modelo em vivo, fulenos, nanopartículas de carbono, pontos quânticos de grafeno, pontos quânticos de carbono e nanotubos de carbono.

**CONCLUSÃO**

Conclui-se, portanto, que para a execução de testes toxicológicos de nanopartículas, foi visto que o *zebrafish* é tido como um excepcional modelo in vivo. É possível enfatizar a viabilidade das NPs em várias aplicações biomédicas, destacando suas características singulares. As NPs são economicamente acessíveis e de fácil manutenção. Elas permitem a eficaz avaliação de agentes através de diferentes exposições, inclusive na água, o que é especialmente útil na toxicologia ambiental. Ademais, possibilitam a análise de impactos fisiológicos em distintos estágios de desenvolvimento. A revisão explorou a toxicidade de NPs de metais e carbono, enfatizando parâmetros de exposição e propriedades físico-químicas das NPs. Dessa forma, o *zebrafish* oferece tanto para pesquisas pré-clínicas quanto para desenvolvimento de NPs terapêuticas e estratégias de mitigação de toxicidade.

**REFERÊNCIAS**

CHAKRABORTY, C.; SHARMA, A. R.; SHARMA, G. & LEE, S. Zebrafish: A complete animal model to enumerate the nanoparticle toxicity. J. Nanobiotech. 2016.

DAS, S.; MITRA, S.; KHURANA, S.M.P. & DEBNATH, N. Nanomaterials for biomedical applications. Front. Life Sci. 2013.

DE CROZALS, G.; BONNET, R.; FARRE, C. & CHAIX, C. Nanoparticles with multiple properties for biomedical applications: A strategic guide. Nano Today. 2016.

DOOLEY, K. & ZON, L. I. Zebrafish: A model system for the study of human disease. Curr. Opin. Genet. Dev. 2000.

GEFFROY, B.; LADHAR, C.; CAMBIER, S.; TREGUER-DELAPIERRE, M.; BRÈTHES, D. & BOURDINEAUD, J. P. Impact of dietary gold nanoparticles in zebrafish at very low contamination pressure: The role of size, concentration and exposure time. Nanotoxicology. 2012.

GEORGE, S.; GARDNER, H.; SENG, E. K.; CHANG, H.; WANG, C.; YU FANG, C. H.; RICHARDS, M.; VALIYAVEETTIL, S. & CHAN, W. K. Differential effect of solar light in increasing the toxicity of silver and titanium dioxide nanoparticles to a fish cell line and zebrafish embryos. Environ. Sci. Technol. 2014.

HAFFTER, P.; GRANATO, M.; BRAND, M.; MULLINS, M.C.; HAMMERSCHMIDT, M.; KANE, D. A.; ODENTHAL, J.; VAN EEDEN, F.; JIANG, Y. J. & HEISENBERG, C.P. The identification of genes with unique and essential functions in the development of the zebrafish, Danio rerio. 1996.

HORIKOSHI, S. & SERPONE, N. Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2013.

KETTLEBOROUGH, R. N.; BUSCH-NENTWICH, E. M.; HARVEY, S. A.; DOOLEY, C. M.; DE BRUIJN, E.; VAN EEDEN, F.; SEALY, I.; WHITE, R. J.; HERD, C. & NIJMAN, I. J. A systematic genome-wide analysis of zebrafish protein-coding gene function. Nature. 2013.

KUMAR, V.; TOFFOLI, G. & RIZZOLIO, F. Fluorescent carbon nanoparticles in medicine for cancer therapy. ACS Med. Chem. Lett. 2013.

LEE, K. J.; BROWNING, L. M.; NALLATHAMBY, P. D. & XU, X. H. N. Study of charge-dependent transport and toxicity of peptide-functionalized silver nanoparticles using zebrafish embryos and single nanoparticle plasmonic spectroscopy. Chem. Res. Toxicol. 2013

MCNAMARA, K. & TOFAIL, S. A. Biomedical applications of nanoalloys. In Nanoalloys: From Fundamentals to Emergent Applications; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands. 2013.

RIBAS, L. & PIFERRER, F. The zebrafish (Danio rerio) as a model organism, with emphasis on applications for finfish aquaculture research. Rev. Aquacult. 2014.

STARK, W. J.; STOESSEL, P. R.; WOHLLEBEN, W. & HAFNER, A. Industrial applications of nanoparticles. Chem. Soc. 2015.

STRÄHLE, U.; SCHOLZ, S.; GEISLER, R.; GREINER, P.; HOLLERT, H.; RASTEGAR, S.; SCHUMACHER, A.; SELDERSLAGHS, I.; WEISS, C. & WITTERS, H. Zebrafish embryos as an alternative to animal experiments - A commentary on the definition of the onset of protected life stages in animal welfare regulations. Reprod. Toxicol. 2012.

XIA, G.; LIU, T.; WANG, Z.; HOU, Y.; DONG, L.; ZHU, J. & QI, J. The effect of silver nanoparticles on zebrafish embryonic development and toxicology. Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. 2016.

YOO, M. H.; RAH, Y. C.; CHOI, J.; PARK, S.; PARK, H. C.; OH, K. H.; LEE, S. H. & KWON, S. Y. Embryotoxicity and hair cell toxicity of silver nanoparticles in zebrafish embryos. Int. J. Pediat. Otorhinolaryngol. 2016.