

Nanocząstki to ultra-małe układy o wielkości nie przekraczającej 100 nm, posiadające unikalne właściwości fizykochemiczne, różne niż materiały, z których zostały wykonane. Nanocząstki srebra (AgNPs) posiadają m.in. silne właściwości antybakteryjne i z tego względu znajdują zastosowanie w wielu wyrobach medycznych (opatrunki, implanty, cewniki, narzędzia chirurgiczne, płyny antybakteryjne), jak również w produktach codziennego użytku (m.in. bielizna outdoor, pasty do zębów, opakowania do żywności i.t.p.). Obecnie AgNPs są najczęściej wykorzystywanym nanomateriałem a liczba produktów zawierających je stale rośnie. Rozpowszechnione użycie AgNPs, wykazujących cytotoksyczne działanie wobec bakterii i wirusów, rodzi pytanie o potencjalny niekorzystny wpływ na organizmy żywe i wskazuje potrzebę badań nad mechanizmami ich toksyczności. Co więcej, wykazano uwalnianie AgNPs z produktów, wskazując na wzrastające ryzyko ekspozycji środowiskowej. Dlatego też istotne jest określenie skutków toksyczności nanosrebra w zwierzęcych układach eksperymentalnych. Celem proponowanego projektu jest zbadanie neurotoksycznego wpływu niskich dawek AgNPs u młodych szczurów w warunkach przedłużonego podawania drogą pokarmową, ze szczególnym uwzględnieniem roli receptorów dla glutaminianu (NMDA). Dotychczasowe badania wykazały preferencyjną kumulację nanosrebra w mózgu w porównaniu do innych tkanek oraz uszkodzenie naczyń mózgowych. Ponadto u zwierząt eksponowanych na nanosrebro stwierdzono wzmożoną produkcję wolnych rodników oraz stres oksydacyjny, prowadzący do śmierci neuronów. Z kolei nasze wstępne badania na hodowlach neuronów wykazały udział receptorów dla glutaminianu (NMDA) w indukowanej przez AgNPs śmierci komórek. Jak wiadomo, nadpobudzenie receptorów NMDA wiąże się ze stresem oksydacyjnym i uszkodzeniem komórek, dlatego wydaje się możliwe, że receptory te mogą również być włączone w patomechanizmy neurotoksyczności AgNPs *in vivo*. Ponieważ receptory glutaminianergiczne NMDA nie tylko biorą udział w wielu stanach patologicznych mózgu, ale są włączone również w funkcje mózgowie takie jak zjawiska uczenia się i pamięci, szczególnie istotne jest określenie możliwych szkodliwych skutków ekspozycji u organizmów młodych. Dlatego badania proponowane w niniejszym projekcie obejmą określenie aktywności oraz ekspresji receptorów NMDA w mózgach młodych szczurów eksponowanych na AgNPs, funkcji i ekspresji układów transportujących glutaminian oraz możliwych skutków nadaktywacji tych receptorów, wyrażających się w postaci degeneracji neuronów. Przeprowadzone zostaną również odpowiednie testy behawioralne mogące wskazać zmiany zachowań spowodowane zaburzeniami funkcji receptorów NMDA. Udział receptora NMDA zostanie zweryfikowany przez podanie zwierzętom eksponowanym na nanosrebro substancji blokującej jego aktywność. W celu zbliżenia układu doświadczalnego do warunków środowiskowej ekspozycji, określone zostaną również odległe skutki narażenia. Badania będą prowadzone w dwóch wariantach czasowych - wczesnym (tuż po ekspozycji) oraz późnym (90 dni). Ogólny plan badań zakłada przedłużone (21 dni) podawanie drogą pokarmową 14-dniowym szczurom nanosrebra w dawce 0,2 mg/kg m.c. i następnie ocenę jego biodostępności poprzez pomiar we krwi i tkankach zwierząt. Zwierzęta zostaną poddane testom behawioralnym we wczesnym i późnym czasie po ekspozycji. W mózgu zostanie określony poziom ekspresji receptora oraz ekspresja i funkcja transporterów dla glutaminianu. Zaburzenia układów transportujących mogą bowiem skutkować podwyższonym poziomem zewnątrzkomórkowego glutaminianu oraz nadpobudzeniem receptorów NMDA, z jego dalszymi negatywnymi efektami w postaci śmierci neuronów, co zostanie ocenione w badaniach immunohistochemicznych. Spodziewanym efektem badań będzie przede wszystkim wiedza na temat mechanizmów neurotoksycznego działania nanosrebra w okresie rozwojowym. Badania takie nie były dotychczas prowadzone. Ponadto problem naukowy podjęty w niniejszym projekcie jest cenny z punktu widzenia społecznego i środowiskowego. Obecna wiedza o wpływie nanocząstek zawartych w nanoproductach na człowieka jest w chwili obecnej znikoma, trudno więc określić długotrwałe skutki ekspozycji środowiskowej. Uzyskane wyniki poszerzą więc wiedzę z zakresu nanotoksykologii, pomagając zwrócić uwagę na narastający problem ryzyka narażenia na nanocząstki powstające w procesach nanotechnologicznych i uwalniane z nanoproductów.