

STRESZCZENIE

W latach pięćdziesiątych ubiegłego wieku nastąpił rozkwit nowej gałęzi przemysłu – nanotechnologii, czyli technologii produkcji i zastosowania w przemyśle sztucznych nanocząstek. Jedną z obiecujących nanocząstek jest tlenek grafenu (GO), który dzięki swoim atrakcyjnym właściwościom fizycznym i chemicznym ukazał nowe możliwości w wielu dziedzinach przemysłu. Szybko rosnące zainteresowanie nanomateriałami i coraz powszechniejsze ich użycie ujawnia wiele ważnych i niepokojących pytań dotyczących możliwej toksyczności dla ludzi, zwierząt i innych organizmów w różnych ekosystemach. Uwolnienie nanocząstek, w tym tlenku grafenu do ekosystemu podczas produkcji, przetwarzania i aplikacji niewątpliwie zwiększa ryzyko środowiskowe, dlatego niezbędne jest dokładne zrozumienie biologicznych konsekwencji ich obecności w ekosystemach. Przesłanką do sformułowania tematu rozprawy doktorskiej był fragmentaryczny stan wiedzy o wpływie GO na reprodukcję na poziomie molekularnym oraz potrzeba poszukiwania skutecznego traktowania farmakologicznego w celu uniknięcia lub zmniejszenia możliwych niekorzystnych skutków działania GO na organizmy. Nadal istnieje niewiele informacji opisujących procesy reprodukcji pod wpływem nanocząstek. Aby lepiej zrozumieć zagrożenia środowiskowe związane z GO i wskazać przyjazne dla środowiska rozwiązania dotyczące jego przyszłych zastosowań, niezbędne są badania jego szkodliwego wpływu na reprodukcję i mechanizmy toksyczności, szczególnie na poziomie molekularnym. Głównym celem badań niniejszej pracy doktorskiej było sprawdzenie, czy zawartość witellogenin w ciele świerszcza domowego podlega zmianom po długotrwałym narażeniu na tlenek grafenu w pokarmie, oraz, jeśli zmiany takie istnieją, to czy są one zależne od linii owadów różniących się średnią długością czasu życia. Drugim celem była ocena potencjalnie ochronnego oddziaływania kwasu askorbinowego, uznawanego za silny antyoksydant, względem GO.

W pierwszym rozdziale opisano efekty długoterminowego narażenia na tlenek grafenu w liniach *Acheta domesticus* selekcionowanych pod kątem długowieczności (pierwszy model eksperymentalny). Tlenek grafenu, nawet w niskich stężeniach użytych w eksperymentach, miał negatywny wpływ na organizm świerszcza domowego. Po zastosowaniu GO stwierdzono istotne zmiany aktywności katalazy, żywotności komórek oraz wzrost stopnia uszkodzeń DNA. Intoksykacja GO doprowadziła do zmiany w poziomie ekspresji witellogenin, czego następstwem może być obniżenie sukcesu reprodukcyjnego. Usunięcie tlenku grafenu z diety zainicjowało rekonwalescencję traktowanych osobników. Po 15 dniach stwierdzono poprawę w zakresie badanych parametrów komórkowych, szczególnie w linii długowiecznej. W drugim rozdziale szczególną uwagę skupiono na domniemanym ochronnym działaniu silnego antyoksydanta, jakim jest witamina C (drugi model eksperymentalny). Podobnie jak w modelu pierwszym, narażenie owadów na GO doprowadziło do zachwiania homeostazy u *Acheta domesticus*. Suplementacja witaminą C przez 15 dni nie przyniosła oczekiwanego efektu leczniczego. Co więcej, po dodaniu witaminy C do diety zauważono większe uszkodzenia DNA w komórkach hemocytów. W tym przypadku można wnioskować, że długotrwała intoksykacja GO i działanie witaminy C przez 15 dni wzmocniło niekorzystny efekt GO, doprowadzając do większych uszkodzeń DNA w jądrach komórkowych. Najlepszy rezultat, przejawiający się poprawą badanych parametrów komórkowych, miało odstawienie skażonej karmy. W ciągu 15 dni od odstawienia karmy z GO, świerszcze miały możliwość regeneracji i były w stanie naprawić większość uszkodzeń powstałych w procesie długotrwałego narażenia na GO. Oznacza to najprawdopodobniej, że GO uległ neutralizacji lub/i wydaleni z organizmu a sprawnie działające mechanizmy antyoksydacyjne są w stanie doprowadzić do odzyskania stanu typowego dla badanej populacji. W trzecim rozdziale przedstawiono szczegółowe analizy ekspresji witellogenin u osobników *A. domesticus* z trzech, kolejnych generacjach świerszczy, które poddano

długotrwałej intoksykacji tlenkiem grafenu w karmie (trzeci model eksperymentalny). Zmierzono całkowitą zawartość witellogenin w ciele tłuszczowym owadów, jak również ekspresję podjednostek witellogenin. Długotrwałe narażenie na GO doprowadziło do zmian w ekspresji witellogenin. Porównanie trzech generacji świerszczy pokazało, że intoksykacja GO wywołała najsilniejszy efekt w pierwszej generacji owadów, gdzie mocno zaburzona została ekspresja podjednostek witellogenin oraz widoczne były zmiany ilościowe w produkcji tych białek. Druga generacja *Acheta domesticus*, która została narażona na GO prezentowała wysoki poziom ekspresji białek, co prawdopodobnie świadczyło o alokacji energii w kierunku utrzymania wysokiego wskaźnika reprodukcji. Dopiero trzecia generacja prezentowała stabilny poziom ekspresji witellogenin. Najprawdopodobniej uruchomione zostały mechanizmy epigenetyczne, które pozwoliły na powrót do homeostazy zbliżonej do owadów z grup niepoddanych ekspozycji na GO. Zwrócono uwagę na zaburzoną ekspresję podjednostek witellogenin w poszczególnych generacjach. Przypuszczalnie tlenek grafenu ma wpływ na obróbkę potranskrypcyjną białek lub zaburza ich strukturę czwartorzędową. Wyniki badań uzyskane w tym projekcie doktorskim ukazują, że długotrwałe narażenie na tlenek grafenu niesie ze sobą niekorzystne zmiany w organizmie. Warto podkreślić, że intoksykacja GO, nawet w bardzo niskich stężeniach, może mieć negatywne oddziaływanie na procesy reprodukcyjne na poziomie ekspresji białek witellogenin. Witamina C, która jest mocnym antyoksydantem nie poprawia kondycji organizmu narażonego na działanie tlenku grafenu. Skutecznym sposobem wspierającym rekonwalescencję i poprawę parametrów zdrowotnych jest wyeliminowanie czynnika toksycznego z diety.