

Uniwersytet Szczeciński

Instytut Biologii

**mgr Małgorzata Garncarek-Musiał**

Tytuł rozprawy doktorskiej:

**Wpływ nanoproductów miedzi na ruchliwość i wybrane cechy biochemiczno-fizjologiczne plemników pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss* W.)**Promotor: dr hab. **Katarzyna Dziejulska**, prof. USPromotor pomocniczy: dr hab. inż. **Monika Kowalska-Górska****STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

Środowisko wodne jest miejscem akumulacji zanieczyszczeń generowanych przez gospodarkę człowieka. W ostatnich latach, wraz z postępującą industrializacją i rozwojem technologii, pojawiły się nowe zagrożenia dla środowiska wodnego. Rozwój nanotechnologii, w tym zastosowanie nanoproductów (NPs), spowodował rozwój badań naukowych związanych z ich potencjalnym wykorzystaniem oraz zagrożeniami związanymi z uwalnianiem do środowiska. U zwierząt z zapłodnieniem zewnętrznym nanoproducty mają wpływ nie tylko na całe organizmy, ale także na gamety, które są bezpośrednio wyrzucane do środowiska wodnego, zatem skład środowiska wodnego wpływa na mechanizmy wyzwalające aktywację gamet, charakterystykę ruchu plemników i ich zdolność do zapłodnienia. Plemniki są wykorzystywane jako komórki modelowe do badań nad wpływem zanieczyszczeń na komórki.

Nanoproducty miedzi są jednymi z najczęściej używanych NPs ze względu na ich właściwości dezynfekcyjne i potencjał zastosowania w elektronice, diagnostyce i transporcie leków do komórek. Cechy fizyko-chemiczne nanoproductów mają wpływ na toksyczność wywieraną przez NPs na komórki i organizmy. Celem pracy było zbadanie wpływu rozmiaru Cu NPs na kinematykę ruchu plemników i porównanie ich toksyczności z jonową formą miedzi w kontakcie bezpośrednim, analiza wpływu różnych form miedzi (Cu i CuO NPs oraz jonów Cu) na parametry ruchu plemników po wydłużonym kontakcie, podczas 96-godzinnej inkubacji oraz określenie mechanizmów toksyczności NPs, w tym indukcję śmierci komórkowej, aktywację kaspaz

zewnątrznego (Cas8) i wewnętrznego (Cas9) szlaku apoptozy, generowanie reaktywnych form tlenu (ROS) i zmiany potencjału błony mitochondrialnej (MMP).

Stwierdzono zależność wpływu nanomiedzi na plemniki od rozmiaru cząstki – mniejsze Cu NPs były bardziej szkodliwe niż większe. Zaobserwowano również wpływ zależny od formy nanomiedzi na parametry ruchu plemników pstrąga tęczowego, tj. Cu NPs wywierał bardziej negatywne oddziaływanie niż CuO NPs. Analiza wpływu badanych produktów miedzi na śmierć komórkową ujawniła zróżnicowanie toksyczności. Szkodliwość układała się w kolejności: Cu NPs > Cu<sup>2+</sup> > CuO NPs. Nanoprodukty miedzi w większym stopniu niż jony miedzi aktywowały kaspazę 9 indukując wewnętrzny szlak apoptozy.

Słowa kluczowe:

nanomiedź, Cu NPs, CuO NPs, CuSO<sub>4</sub>, plemniki, pstrąg tęczowy, *Oncorhynchus mykiss*, CASA, apoptoza, Cas8, Cas9, ROS, MMP, ekotoksykologia



University of Szczecin

Institute of Biology

**Małgorzata Garncarek-Musiał, MSc**

Doctoral dissertation title:

**Effect of copper nanoparticles on motility and selected biochemical and physiological characteristics of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) spermatozoa**

Supervisor: dr hab. **Katarzyna Dziewulska**, prof. US

Co-supervisor: dr hab. inż. **Monika Kowalska-Górska**

#### SUMMARY OF THE DOCTORAL DISSERTATION

The aquatic environment serves as an accumulation site for pollutants generated by human activities. In recent years, with advancing industrialization and technological development, new threats have emerged for aquatic ecosystems. The development of nanotechnology, including the application of nanoproducts (NPs), has stimulated scientific research into their potential uses and the environmental risks associated with their release. In externally fertilized animals, nanoproducts affect not only the whole organism but also the gametes, which are released directly into the aquatic environment. Consequently, the composition of the aquatic environment influences the mechanisms that trigger gamete activation, sperm motility characteristics and fertilization capacity. Spermatozoa are used as model cells to study the effects of contaminants on cellular health.

Copper nanoproducts are among the most widely used NPs due to their disinfectant properties and potential applications in electronics, diagnostics, and targeted drug delivery to cells. The physicochemical characteristics of nanoproducts influence the toxicity exerted by NPs on cells and organisms. The aim of this study was to investigate the effect of Cu NP size on sperm motility kinematics and to compare their toxicity with the ionic form of copper in direct exposure. The study also analyzed the effect of different forms of copper (Cu and CuO NPs and Cu ions) on sperm motility parameters after prolonged contact during a 96-hour incubation period, as well as identified the mechanisms of NPs toxicity, including the induction of cell death, activation of caspases

in both the extrinsic (Cas8) and intrinsic (Cas9) apoptotic pathways, generation of reactive oxygen species (ROS), and changes in mitochondrial membrane potential (MMP).

A particle-size-dependent effect of copper nanoparticles on sperm was observed, with smaller Cu NPs being more harmful than larger ones. A form-dependent impact of copper nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sperm motility parameters was also observed, with Cu NPs exerting more negative effects than CuO NPs. Analysis of the effects of copper products on cell death revealed varying levels of toxicity, ranked as follows: Cu NPs > Cu<sup>2+</sup> > CuO NPs. Copper nanoproducts, more so than copper ions, activated caspase 9, thereby inducing the intrinsic apoptotic pathway.

Keywords:

copper nanoparticles, Cu NPs, CuO NPs, CuSO<sub>4</sub>, sperm, rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, CASA, apoptosis, Cas8, Cas9, ROS, MMP, ecotoxicology

