

Od początku lat pięćdziesiątych XX wieku obserwuje się na świecie znaczący wzrost produkcji tworzyw sztucznych. W 2021 roku w Europie produkcja przekroczyła 390 Mt, a rocznie produkuje się około 26 Mt odpadów z tworzyw sztucznych. Większość wyrobów z tworzyw sztucznych nie ulega biodegradacji lecz rozkłada się na mniejsze cząstki. Produkty o średnicy  $\leq 5$  mm nazywane są mikroplastikiem (MP), a produkty o średnicy  $\leq 1$   $\mu$ m nazywane są nanoplastikiem (NP). Charakteryzują się one niewielkimi rozmiarami, lekkością, dużą wytrzymałością i stabilnością oraz tym, że łatwo rozprzestrzeniają się w różnych środowiskach poprzez działanie wiatru i fal. MP ma ogromny wpływ na środowisko, zdrowie zwierząt i ludzi, i stanowi obszar zainteresowań wielu naukowców.

Ptaki wodne i lądowe narażone są na zanieczyszczenia środowiska MP. Mylą one MP z pożywieniem, co prowadzi do jego gromadzenia się w przewodzie pokarmowym i wielu szkodliwych konsekwencji, takich jak niedożywienie, odwodnienie czy wygłodzenie. Większość dostępnych dotychczas danych pochodzi z badań nad wpływem zanieczyszczeń środowiska MP na ptaki wolno żyjące. W warunkach laboratoryjnych przeprowadzono dotychczas niewielką liczbę badań na różnych modelach ptasich, takich jak kurczaki czy przepiórki.

Głównym celem projektu jest zbadanie wpływu MP w diecie przepiórek japońskich na ich zdrowie i zdrowie ich potomstwa: odpowiednio dzieci i wnuków. Zakładamy, że MP będzie miał wpływ na skład mikrobioty oraz funkcjonowanie i integralność przewodu pokarmowego. Uważamy, że MP może kumulować się w jajach, narządach wewnętrznych i tkankach oraz wpływać na różne szlaki metaboliczne i procesy fizjologiczne (także płodność). Zakładamy, że wpływ ten będzie skutkować różnicami w profilach metabolomicznych surowicy. Ponieważ chcemy dokładnie określić mechanizmy działania MP w organizmach żywych, postanowiliśmy sprawdzić w jednym, globalnym badaniu wszystkie potencjalne mechanizmy działania MP, sugerowane wcześniej przez innych autorów. Dlatego chcemy przeprowadzić niecelowane badania metabolomiczne w surowicy i połączyć ich wyniki z innymi danymi, dotyczącymi poziomu hormonów, profilu lipidowych i statusu antyoksydacyjnego, uzyskanymi w tym projekcie, aby znaleźć potencjalne nowe mechanizmy działania i ich biomarkery. Ponadto chcemy sprawdzić, w jaki sposób narażenie rodziców na MP przenosi się na ich potomstwo, i czy ograniczenie narażenia na MP u potomstwa odwróci lub zahamuje wpływ narażenia rodziców na MP, i za pomocą jakich mechanizmów. W tym celu planujemy badania na trzech pokoleniach: rodzicach (F0), dzieciach (F1) i wnukach (F2). Aby zbadać zależności pomiędzy wszystkimi badanymi parametrami, postanowiliśmy zastosować różne narzędzia chemometryczne.

Ptaki jako zwierzęta modelowe od zawsze odgrywały ważną rolę w różnych badaniach biomedycznych. Przepiórki japońskie są atrakcyjną alternatywą, bardzo podobną do kurcząt, charakteryzującą się małymi rozmiarami, wczesną dojrzałością, szybkim cyklem rozwojowym, szybkim tempem reprodukcji i produkcją dużej liczby jaj, ale przy znacznie krótszym odstępie międzypokoleniowym. Przepiórki japońskie są również szczególnie wrażliwe na zanieczyszczenia środowiska i uważamy, że są bardzo dobrym modelem do badań narażenia na MP. Cały eksperyment zostanie przeprowadzony zgodnie z wytycznymi **Endocrine Disruptor Screening Program Test Guidelines OCSPP 890.2100: Avian Two-generation Toxicity Test in the Japanese Quail**. Ptaki pokolenia F0 zostaną podzielone na dwie grupy doświadczalne: kontrolną (CON) i narażoną doustnie na mikroplastik (MP). Jaja posłużą do oceny m.in. stopnia akumulacji MP i uzyskania pokolenia potomnego (F1). Potomstwo MP zostanie podzielone na dwie grupy: MP/CON wolną od MP i MP/MP otrzymującą MP. Jaja i potomstwo F1 zostaną zbadane pod kątem akumulacji MP i wykorzystane do ustalenia pokolenia F2. Również w pokoleniu F2 potomstwo grupy MP/MP, narażonej na MP, zostanie podzielone na dwie grupy, grupę MP/MP/CON wolną od MP i grupę MP/MP/MP otrzymującą MP.

Zawartość MP będzie oznaczana w osoczu, surowicy, narządach wewnętrznych, treści jelita ślepego i kale. Wykonane zostanie również badanie histopatologiczne tkanek. Będziemy także badać mikroflorę jelita ślepego, hormony tarczycy i hormony steroidowe, aktywność enzymów antyoksydacyjnych, biomarkery stresu oksydacyjnego, takie jak oksysterole czy dialdehyd malonowy, wybrane parametry lipidowe, w tym kwasy tłuszczowe, w materiale pozyskanym od trzech pokoleń (F0, F1 i F2) i połączymy te wyniki z nieukierunkowanym profilowaniem metabolomicznym surowicy.

Niniejszy projekt jest pierwszą próbą pełnego wyjaśnienia wpływu MP w międzypokoleniowych badaniach metabolomicznych u ptaków. Innowacją tego projektu jest badanie pokoleń potomnych różniących się ekspozycją na MP i łączenie różnych parametrów dotyczących komórek jajowych, tkanek i narządów z badaniami metabolomu w surowicy. Uzyskane wyniki pozwolą w przyszłości na wykorzystanie tego modelu w dalszych eksperymentach, m.in. w zakresie programowania rozwojowego.