

Funkcionális neurotoxikológiai változások fénoxid nanopartikulumok szubakut intratracheális adagolásával kezelt patkányokban

PAPP ANDRÁS¹, SÁRKÖZI LEILA¹, KÓNYA ZOLTÁN², VEZÉR TÜNDE¹

¹SZTE ÁOK Népegészségtani Intézet, Szeged

²SZTE TTIK Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék

Összefoglalás: A fémtartalmú nanorészecskék belégzése, mint egészségkárosító tényező, csak nemrég óta ismert. Főleg magas hőmérsékletű ipari folyamatokban keletkezik fémfüst, mely többek között mangánt, kadmiumot és ólomot is tartalmazhat. Jelen kísérletekben laboratóriumban előállított fénoxid (MnO₂, CdO₂, PbO) nanorészecskék vizes szuszpenzióját instilláltuk patkányok légsővébe hat héten át, és megfigyeltük a motoros magatartásban ill. az idegi elektromos aktivitás különböző formáiban kialakuló elváltozásokat. Regisztráltuk a kezelt, valamint kezeletlen és vivőanyagot kontroll állatok spontán mozgási aktivitását „open field” készülékben, majd uretános altatásban elvezettük a spontán és a szenzoros ingerléssel kiváltott agykérgi aktivitást és a farokideg összetett akciós potenciálját. A motoros aktivitásra a három fém eltérően hatott: a Mn-kezeltekben a helyzetváltoztatás és mozdulatlanság fokozódott a helyváltoztatás és ágaskodás rovására, a Pb-kezeltekben a helyzetváltoztatás fokozódott és az ágaskodás csökkent, míg a Cd nem mutatott kifejezett hatást. A spontán kérgi aktivitás spektruma mindhárom fémmel a nagyobb frekvenciák felé tolódott el, míg a kiváltott válaszokon a latencia fokozódása volt észlelhető. A Mn és Pb hatására az idegi vezetés sebessége is csökkent.

Az eredmények alapján az alkalmazott módszer a fémfüst-inhaláció neurológiai következményeinek megfelelő állatkísérletes modellje lehet. A kvalitatíve hasonló változások a három vizsgált fém közös hatásmechanizmusaira utalnak.

Kulcsszavak: nanopartikulum, mangán, kadmium, ólom, neurotoxicitás, patkány

Egészségtudomány 54/1 60-71 (2010)

Közlésre érkezett: 2009 szeptember 5-én

Elfogadva: 2009 október 20-án

PAPP ANDRÁS PhD

Szegedi Tudományegyetem

ÁOK Népegészségtani Intézet

6720 Szeged, Dóm tér 10.

tel.: 06-62-545-119;

fax: 06-62-545-120

e-mail: ppp@puhe.szote.u-szeged.hu

Bevezetés

Számos ipari folyamatban keletkezik fémtartalmú füst ill. finom por; főleg ott, ahol magas hőmérséklet képződik (öntés, hegesztés, lángvágás stb.). A kialakuló, elsősorban fénoxidokat tartalmazó aeroszol belégzése jelentős foglalkozási expozíciós forrás, és közvetlen kóroki tényezőként szerepel mind akut (fémláz), mind krónikus (KALB) megbetegedésekben (1).

Szervetlen állapotú mangánt ötvözött acélok előállításához, valamint a hagyományos szárazelemek gyártásakor használnak. Ismeretes néhány szerves kötésű Mn-t tartalmazó gombaölőszer (maneb, mancozeb), bizonyos országokban pedig használatos az MMT (metilciklopentadienil-mangán-trikarbonil) mint motorbenzin-adalék. Maga a Mn esszenciális mikroelem, a napi szükséglet felnőtt ember számára 4-5 mg. Hiányában a porc- és csontképződés zavara léphet fel (2). Alacsony Mn-vérszintű anyák magzatának elégtelen fejlődését is leírták (3).

A Mn túlzott bevitele azonban ugyancsak betegítő tényező és pl. a manganizmus néven ismert foglalkozási betegség okozója (4). Mn-tartalmú aeroszol belégzését követően epilepsziát (5) és izomrángásos tüneteket (6) is közöltek.

A kadmiumot acél- és más ötvözetek előállításához, pigmentekhez, akkumulátorokhoz és galván bevonatok készítéséhez használják (az utóbbi két alkalmazás azonban mára erősen visszaszorult). Fémfüst-expozíció döntően foglalkozási eredettel fordul elő, bár számottevő lehet a dohánynövény által a levelekben felhalmozott, és a füsttel a dohányosok szervezetébe kerülő Cd mennyisége is. Ez a fém a májban és vesében rakódik le, és e szerveken kívül főleg a csontokat károsítja, ismeretesek azonban Cd okozta viselkedési és neurológiai zavarok is. Ipari Cd-expozíciót szenvedettekben koncentrációzavart, a vizuomotoros képességek csökkenését, valamint egyensúlyzavart írtak le (7). Exponált gyermekekben a vizuális és akusztikus kiváltott potenciálok jellemzői a Cd-terheléssel arányosan változtak el (8). Az emberben tapasztaltakat állatban is modellezték (9).

A belélegezhető ólom fő forrása a múltban az ólmozott motorbenzin volt (Magyarországon ilyet 1999 óta nem forgalmaznak, néhány szomszédos országban azonban még kapható). Foglalkozási expozíció az ólomérczek kohósításakor, az ólom késztermékké (pl. akkumulátor) alakításakor, valamint a hulladék újrafeldolgozásakor lép fel. Az idegrendszer közismerten a Pb egyik fő támadáspontja. Exponált dolgozóknál a kéri kiváltott válaszok és a perifériás idegi vezetés elváltozását találták (10, 11). A magasabb szintű funkciózavar mértéke arányos volt a vérszinttel (12). Ugyancsak ismert a gyermekek viselkedési abnormalitása ill. IQ-deficitje és az ólomterhelés közötti kapcsolat (8).

Inhalációs expozícióban fontos tényező az aeroszol-részecskék mérete, mivel ez mind atmoszférikus ülepedési-lebegési hajlamukat, mind pedig a szervezeten belüli lerakódást és transzportot befolyásolja. Az utóbbi években vált világossá az 1 µm névleges (aerodinamikai) átmérőnél kisebb, korábban ultrapor ill. PM1 néven emlegetett (13) szemcsék, mint patogén tényezők szerepe. Csekély tömegük ellenére igen nagyszámú részecskéről van szó, melyek nagy és kémiai igen reaktív összfelülete jelentős biológiai válaszokat indukálhat (14). Különösen igaz ez, ha a szemcsék anyaga közönséges állapotban is erősen reakcióképes, ahogy az pl. fénoxidokra is áll.

A nanoméretű részecskék másik alapvető biológiai jellemzője, hogy képesek a mikroszkópikus tartományba eső partikulumokat visszatartó határfelületeken is áthatolni, tipikusan az endocitózis nanoméretű megfelelőjének tekinthető ún. kaveola-képződés segítségével, valamint képesek az axonális transzportot igénybe véve idegsejtről idegsejtre vándorolni (15).

A Szegedi Tudományegyetemen működő Környezet- és Nanotechnológiai Regionális Tudáscentrummal együttműködve a Népegészségtani Intézetben kísérletsorozatot hajtottunk végre, munka- és környezet-higiénés szempontból releváns nanopartikulumok idegrendszeri hatásainak

vizsgálatára.

Jelen dolgozatban három neurotoxikus nehézfém oxidjából álló nanopartikulumok 6 hetes intratracheális adagolásával előidézett funkcionális elváltozásokat írjuk le.

Anyag és Módszer

A kísérleteket felnőtt (300-350 g testtömegű) hím Wistar patkányokon végeztük. Az állatokat az egyetemi tenyészetből szereztük be és szokványos állatházi körülmények között (22 ± 2 °C hőmérséklet, 12 órás fény-sötét ciklus 06:00-kor kezdődő nappali időszakkal, korlátlan ivóvíz- és tápfogyasztás) tartottuk.

A három nanopartikuláris fénoxid hatását három különálló kísérletben vizsgáltuk (*I. táblázat*). Minden esetben négy, egyenként 10 állatból álló csoporttal indult a munka; volt egy kezeletlen kontroll (KK), egy vivőanyagos kontroll (VK), valamint egy kis dózissal (KD) és egy nagy dózissal (ND) kezelt csoport. Az *I. táblázatban* feltüntetett dózisokat a patkányok légzési perctérfogatára, valamint a vizsgált fénoxidok inhalációs toxicitására vonatkozó irodalmi adatok alapján (Cd: 16; Pb: 17, 18) határoztuk meg. A Mn esetében saját korábbi eredményeinkből indulhattunk ki (19).

I. TÁBLÁZAT. Kezelési csoportok és dózisok.

TABLE I.: Treatment groups and doses

Csoport Group	Kód Code	Anyag Substance	Dózis (mg fém/ttkg) Dose (mg metal / kg b.w.)
Kezeletlen kontroll Untreated control	KK	---	---
Vivőanyagos kontroll Vehicle control	VK	Aqua dest.	---
Mangán, kis dózis Manganese, low dose	KD-Mn	MnO ₂ nanosuspension	2,63
Mangán, nagy dózis Manganese, high dose	ND-Mn		5,26
Kadmium, kis dózis Cadmium, low dose	KD-Cd	CdO ₂ nanosuspension	0,04
Kadmium, nagy dózis Cadmium, high dose	ND-Cd		0,4
Ólom, kis dózis Lead, low dose	KD-Pb	PbO nanosuspension	2
Ólom, nagy dózis Lead, high dose	ND-Pb		4

A fénoxid nanopartikulumokat az SZTE Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszékén állították elő. MnO₂ nanorészecskék létrehozásához KMnO₄ oldat és etilén-glikol elegye ultrahangos besugárzást, majd a nyert sötét színű szuszpenzió 200 °C-on 16 órás hidrotermális kezelést kapott. A nagyrészt már MnO₂ nanoporból álló csapadékot 80 °C-os desztillált vízzel mosták, majd szárították.

A CdO₂ előállításához CdCl₂ és Na₂CO₃ sztöchiometrikus mennyiségét NaCl mátrixban 4 órán át golyósmalomban örölték, majd 400 °C-on levegőn kalcinálták, csapadékot 80 °C-os desztillált vízzel mosták, majd szárították. A PbO nanoport ugyanezen eljárással, Pb(Ac)₂ és NaOH kiindulási anyagokból készítették.

A fémoxid nanopartikulumokat az állatoknak való beadáshoz desztillált vízben szuszpendáltuk (ez a semleges közeg nem fokozta a nanorészecskék tapadási hajlamát és nem befolyásolta oldhatóságukat). Az aggregáció ellensúlyozására a szuszpenziót beadás előtt, és többször közben is, ultrahangos kezelésnek vetettük alá.

A beadás intratracheális instillációval történt, heti 5 nap, 6 héten át. A beadási térfogat 1,0 ml/ttkg volt; a vivőanyagot kontroll (VK) csoport deszt. vizet kapott. A légsóba való cseppentéshez az állatokat búra alatt dietil-éterrel egyenként rövid időre elaltattuk, és háttal egy 60°-ban dőlt lapra függesztettük fel, a felső metszőfogakat egy dróthurokba akasztva (ez nemcsak rögzítette az állatot, hanem a száj nyitva tartását is megoldotta). Az állat gégefőjét fókuszált hidegfényű fényforrással a bőrön át világítottuk meg, és egy alkalmas méretű, egyedileg készített laringoszkóppal tettük hozzáférhetővé. A tracheába az anyagot a hangszalagok között bevezetett 1,2 mm külső átmérőjű félkemény műanyag csővel adtuk be, 1 ml-es fecskendőből.

Az utolsó anyagbeadás után 2-3 nappal „open field” (OF) készülékben vizsgáltuk a patkányok exploratív készletét és spontán lokomotoros aktivitását. Az állatok egyesével, 10 percre kerültek az OF dobozba, mely automatikusan, infravörös fénykapuk segítségével detektálta az állat vízszintes síkú és felegyenesedő mozgásait. A készülékhez tartozó szoftver ebből a négy fő mozgásforma (helyváltoztatás, helyzetváltoztatás, ágaskodás, mozdulatlanság) előfordulási számát és összesített időtartamát számította ki.

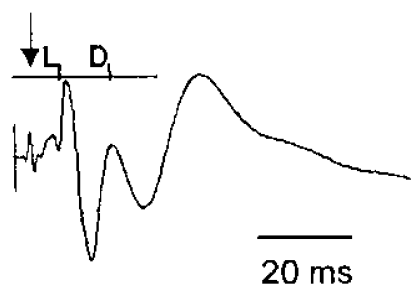
Az OF vizsgálatot követő napon történtek az elektrofiziológiai mérések. A preparáláshoz az állatokat ip. adott uretánnal (1000 mg/ttkg) altattuk el. A fej rögzítését követően nyílirányú metszéből kiindulva hozzáférhetővé tettük a csontos koponyát. A sebfelületekre 10% lidokaint permeteztünk, ezt követően fogászati fűrő segítségével (a falcsont körbefürésével) feltártuk a bal parietális kérget. Az agyfelszín vazelinnel fedtük le, és az állatot legalább 30 percig pihentettük.

A központi idegrendszer működését a spontán agykérgi aktivitás, valamint a kérgi szenzoros kiváltott potenciálok felvétele és elemzése útján, míg a perifériás idegrendszer állapotát a patkány farokidegében mérhető vezetési sebesség méréssel tanulmányoztuk.

Kérgi elvezetéshez ezüst elektródákat helyeztünk a primer szomatoszenzoros, vizuális és akusztikus mezőre. Egy felvételi ciklus során először kétszer három percnyi spontán aktivitást, azaz elektrokortikogramot (ECoG) rögzítettünk párhuzamosan mindhárom területről, ezt követően pedig a szenzoros kiváltott potenciálokat (KP) regisztráltuk. Szomatoszenzoros ingerként a patkány ellenoldali bajuszmezőjébe szúrt tűpáron keresztül gyenge elektromos ütések (3-4 V; 0,05 ms) alkalmaztunk 1, 2 és 10 Hz frekvenciával. A vizuális ingerlés nagy fényerejű fehér LED felvillanásaival történt (0,2 ms, 1 Hz). Az akusztikus ingerek ("click"; 40 dB; 1 Hz) a hallójáratba illeszkedő rögzítőrúd furatán át jutottak az állat fülébe. Mindhárom ingerlési modalitásban 50-50 ingert alkalmaztunk.

A farokidegben az összetett idegi akciós potenciált a faroktőnél beszúrt tűpáron adott elektromos ingerrel (4-5 V; 0,05 ms, 1 Hz) váltottuk ki, és attól 50 mm-re disztálisan beszúrt másik tűpár segítségével vezettük el, 10 ingerből álló sorozattal.

A regisztrátumok tárolása és részben automatizált értékelése számítógéppel, a NEUROSYS 1.11 szoftver (Experimetria kft., Budapest) segítségével történt. Az ECoG-felvételből a standard frekvenciasávokra (delta - gamma) (20) eső relatív teljesítményt számította ki a program. A kérgi és perifériás kiváltott aktivitás felvételeit átlagoltuk, majd képernyőn, mérőkurzorok segítségével meghatároztuk a kiváltott potenciál fő hullámának latenciáját és időbeli szélességét, oly módon, ahogyan azt a szomatoszenzoros kiváltott potenciál esetében az *1. ábra* mutatja.



1. ábra: Mérések a szomatoszenzoros kérgi kiváltott potenciálon.

A latenciának az ingerlési artefaktum (nyíl) és az L pont közötti, az időtartamnak az L és a D pont közötti időbeli távolság felel meg.

Fig. 1: Measurements on the somatosensory evoked potential.

Latency was measured between the stimulus artefact (arrow) and L, and duration, between L and D.

A perifériás ideg vezetési sebességének meghatározása az ingerületi hullám megjelenésének latenciája, valamint az ingerlő és elvezető tűpár közötti 50 mm-es távolság alapján történt.

Az egyes állatok értékeiből csoportátlagot és szórást számítottunk, és oszlopdiagramon ábrázoltuk. A változások szignifikanciáját egyváltozós ANOVÁ-val vizsgáltuk, a Scheffe-féle post hoc elemzéssel kombinálva. Valamennyi kísérlet elvégzéséhez előzetesen megkaptuk az SZTE Állatkísérleti Tudományos Etikai Bizottság engedélyét.

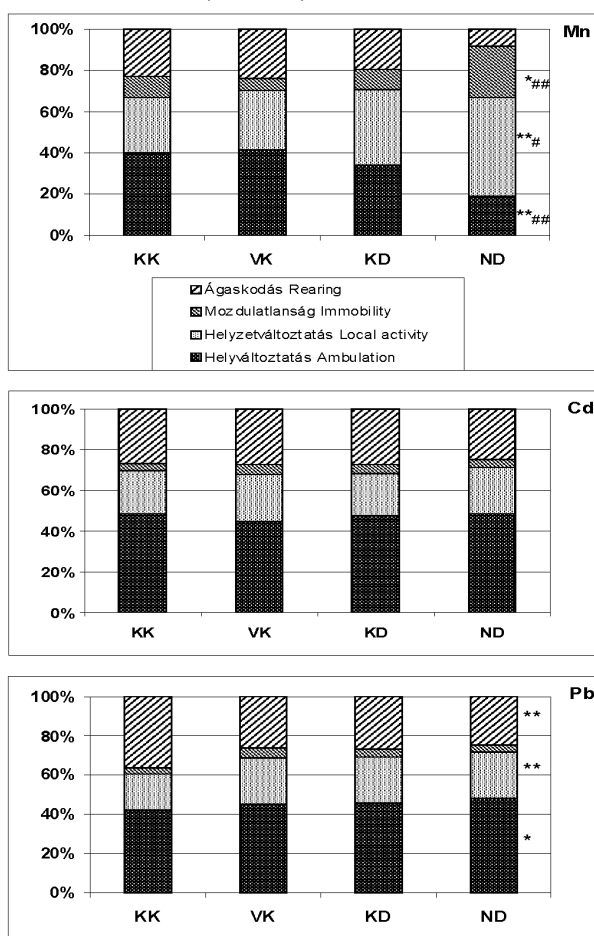
Eredmények

Az open field aktivitás 6 hetes nanorészecske-expozíciót követően a 2. ábrán látható módon alakult. A kezeletlen és vivőanyagos kontroll aktivitása nem különbözött számottevően – ez elsősorban annak igazolásához volt fontos, hogy a sokszorosán ismételt éteres altatásnak és desztillált vizes instillációnak önmagában nem volt jelentős hatása. A Mn esetében (felső diagram) a helyváltoztató mozgás és az ágaskodás dóziszfüggően kialakuló csökkenése, illetve a helyzetváltoztató mozgások és a mozdulatlanság fokozódása jött létre; a nagy dózison szignifikáns mértékben. A Cd-nak (középső diagram) az alkalmazott dózisok mellett nem volt hatása az open field magatartásra. A Pb esetében (alsó diagram) a horizontális aktivitás mindkét formája erősödött, míg az ágaskodással töltött idő csökkent.

Az elektrokortikogram sáv spektrumában a lassú hullámok arányának csökkenése és a gyorsak növekedése volt megfigyelhető, többnyire itt is dóziszfüggő módon. A MnO₂ nanorészecskékkel kezelt állatokban (3. ábra, felső diagram) a delta sáv szignifikáns csökkenése, illetve a béta₂ és gamma sáv fokozódása látszott. (Az ábra a szomatoszenzoros kéregről elvezetett aktivitás spektrumát mutatja. A másik két vizsgált mezőn a változás lényegében azonos volt.) Hasonló volt a változás a CdO₂ nanoport kapott patkányokban is (középső diagram). Az ólom esetében csak a nagy dózissal kezelt állatok értékei különböztek szignifikánsan a kontrollokétól. Ugyancsak látható volt, hogy a kezeletlen és vivőanyagos kontroll ECoG-ja gyakorlatilag megegyező.

A kérgi kiváltott aktivitásra tett hatás legegyszerűbben a szomatoszenzoros KP latenciáján volt kimutatható (4. ábra). A Mn-kezelt állatokban mindenekelőtt feltűnő volt, hogy az egyre gyorsabb (2 ill. 10 Hz-es) ingerléssel kiváltott kérgi válasz latenciája fokozódó mértékben nő a leglassabb (1 Hz-es) ingerléssel kapotthoz képest, azaz a kéreg – vagy a teljes szenzoros pálya – kevésbé volt képes követni a sűrűn érkező ingereket. Ezért a kezelt–kontroll eltérés a gyorsabb ingerlések mellett vált szignifikánssá, a nagy dózisu csoportban ezen kívül maga a frekvencia-függő latencia-fokozódás is szignifikáns volt. A farokideg vezetési sebességére a Mn- és Pb-nanoporról való kezelés szignifikáns

hatást fejtett ki, a Cd-kezelés azonban nem (5. ábra).



2. ábra: A patkányok „open field” készülékben mért spontán lokomotoros aktivitása 6 hetes nanorészecske-expozíciót követően.

Az egyes fémek a diagrammok jobb felső sarkában vannak jelölve. Az oszlopok az inzertben megnevezett tevékenységi formák megoszlását mutatják a teljes mérési időtartamon belül (átlag, n=10). KK: kezeltlen kontroll, VK: vivőanyagos kontroll, KD: kis dózis, ND: nagy dózis.

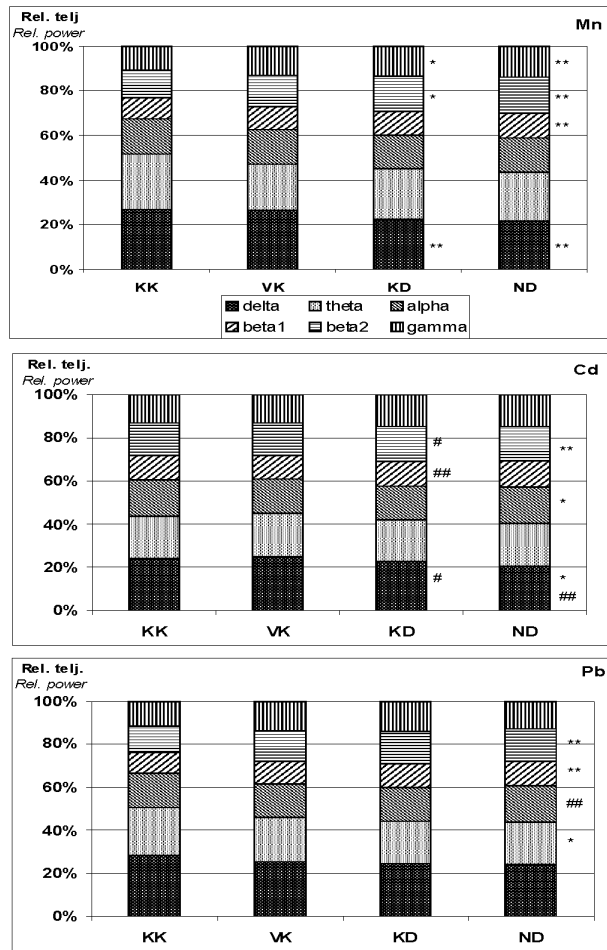
*: p<0,05; **: p<0,01 a KK-hoz; #: p<0,05; ###: p<0,01 a VK-hoz képest.

Fig. 2: Spontaneous “open field” locomotor activity of the rats after 6 weeks exposure by nanoparticles.

The metal applied is indicated in the upper right corner of the panels. The bars show the distribution of the activity forms given in the insert within the total length of the session (mean values, n=10). KK: untreated control, VK: vehicle control, KD: low dose, ND: high dose.

*: p<0.05; **: p<0.01 vs. untreated control; #: p<0.05; ###: p<0.01 vs. vehicle control.

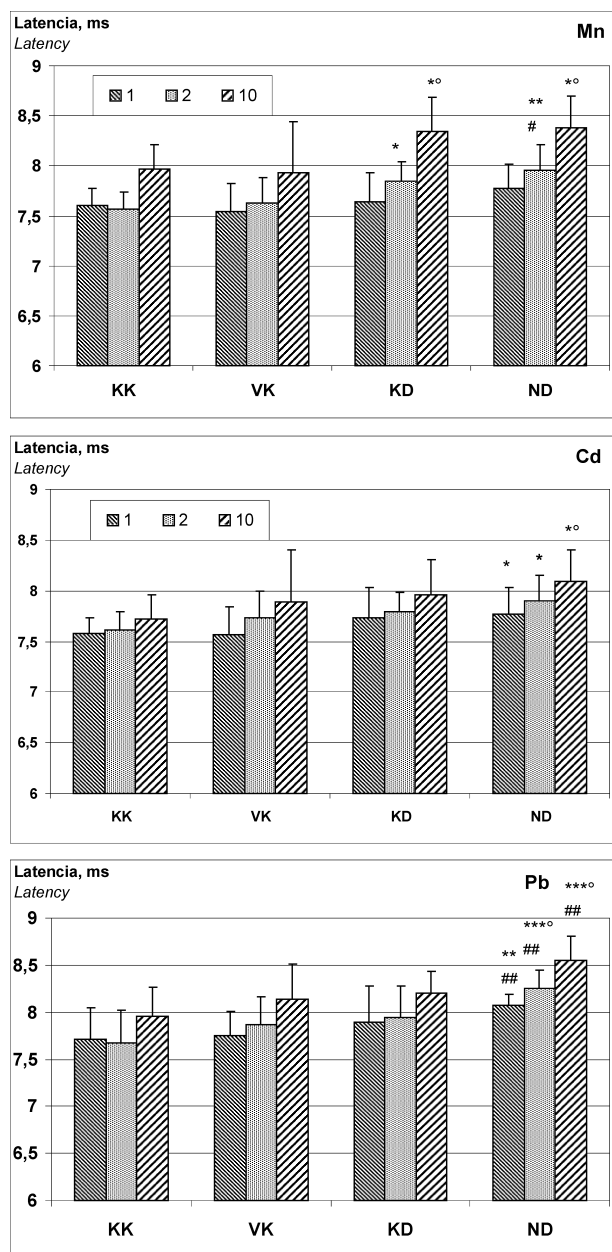
A Cd-nanoporos kísérletben a szomatoszenzoros KP latenciája kevésbé mutatott dóziszfüggést, mint Mn (és Pb, ld. alább) esetében, bár szignifikánsnak csak a nagy dózis hatása bizonyult. A Pb-kezelt állatok esetében megint csak határozottabb volt mind a dóziszfüggés, mind a frekvencia-függő latencia-fokozódás erősödése a kezelt állatokban a kontrollhoz képest.



3. ábra: A három vizsgált fémoxid-nanorészecske hatása a szomatoszenzoros kérgi spontán aktivitásra. Az oszlopok az egyes sávokra (ld. inwert) eső relatív teljesítményt mutatják (átlag, n=10). Az egyéb jelölések a 2. ábrával azonosak.

Fig. 3: Effects of the three metal oxides nanoparticles on the spontaneous activity of the somatosensory cortex.

The columns show the relative power of the bands indicated in the insert. Other markings as in Fig. 2.



4. ábra: A három vizsgált fémoxid-nanorészecske hatása a szomatoszenzoros kérgi kiváltott potenciál latenciájára; 1, 2, és 10 Hz ingerlési frekvencia mellett (ld. inzert).

Átlag és szórás, n=10.

°: p<0,05 az ugyanazon csoportban 1 Hz ingerléssel kapott értékhez képest.

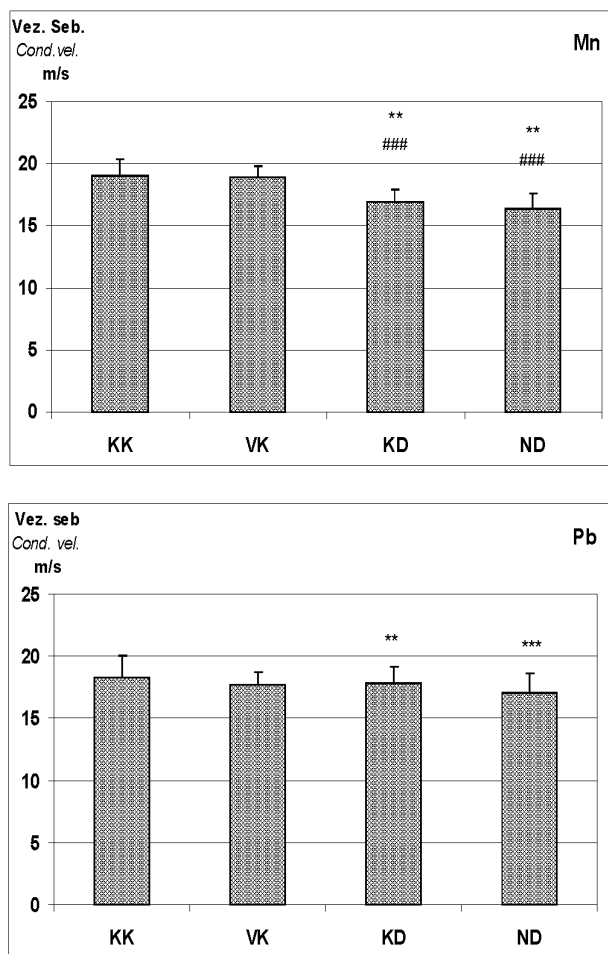
Az egyéb jelölések a 2. ábráéval azonosak.

Fig. 4: Effects of the three metal oxides nanoparticles on the latency of the somatosensory evoked potential at 1, 2 and 10 Hz stimulation frequency (see insert).

Mean+SD, n=10.

°: p<0.05 vs. value obtained with 1 Hz stimulation in the same group.

Other markings as in Fig. 2.



5. ábra: A három vizsgált fémoxid-nanorészecske hatása a farokideg vezetési sebességére.
A jelölések a 2. ábrával azonosak.

Fig. 5: Effects of the three metal oxides nanoparticles on the conduction velocity of the tail nerve.
All markings as in Fig. 2.

Megbeszélés

Az észlelt magatartási és elektrofiziológiai elváltozások alapján nagy valószínűséggel kijelenthető, hogy a 6 héten keresztül a légsőbe instillált fémoxid-nanoszuszpenziók fémtartalma hatást fejtett ki a patkányok központi idegrendszerében. Korábbi munkák során per os adagolt $MnCl_2$ oldat hatására csökkent open field aktivitás és a KP latenciák megnyúlása alakult ki (21), és a kezelt állatok agymintáiból mért Mn-tartalom arányos volt a funkcionális változások mértékével. Pb-acetát 4-12 hetes orális adagolása (22) az ECoG átlag-frekvenciájának növekedését és a KP-ok lassulását idézte elő. Hasonló változás volt észlelhető $CdCl_2$ szubakut orális adagolását követően (23).

A megfigyelt hatások magyarázatára több mechanizmus is feltételezhető. Az alkalmazott nanopartikulumok anyaga közönséges viszonyok között nem vízdékony – ami a fentebb leírt szintézis tisztító munkafázisában lényeges is. Az alveoláris makrofágok fagolizozómáiba kerülve azonban, a 4,5 körüli pH-jú környezetben (24), a részecskék felületéről könnyen oldódhatnak le fémionok (25). A kísérleteinkben alkalmazott három fém közös támadáspontját jelentik a Ca-függő folyamatok. A Ca- csatornákat, és ebből következően az intracelluláris Ca-homeosztázist, számos nehézfém blokkolja ill. zavarja meg (26). Mivel a transzmitter-felszabadulásban a preszinaptikus Ca-beáramlásnak kulcsszerepe van, az ingerület-átvitel a vizsgált fémek hatására gyengülhet ill. lassulhat (Mn: 27; Cd: 28; Pb: 29), ami megmagyarázza a KP-ok fokozódó latenciáját és a farokideg lassabb vezetését.

A spontán kérgi aktivitást a Cd a kolinerg modulációra tett hatáson át képes befolyásolni (30) és a Pb (31). Mn esetében a retikuláris felszálló rostok fokozott aktivitását az erősebbé váló glutamáterg átvitel okozhatta (csökken a glutamát glutaminná inaktiválása az asztricitákban) (32).

Arra is van azonban irodalmi adat, hogy komplett nanoszemesék jutnak el, határfelületeken átlépve ill. idegrostok mentén vándorolva, az agyba és egyéb szervekbe (14). Ilyenkor fokozott oxidatív stressz állhat elő, a nanorészecskék nagy és kémiai igen aktív felületén végbemenő reakcióknak betudhatóan. Ismert a többféle fém, általában Mn-t is tartalmazó hegesztési füst gyulladáskeltő hatása (33) és a Cd-tartalmú, szubmikroszkópikus jelzőanyagként alkalmazott „kvantumpöttyök” (quantum dots) által okozott oxidatív sejtkárosodás (34), nemkülönben a Pb membránlipideket károsító hatása (35).

A levegőből az emberi szervezetbe kerülő nanorészecskék mind munkahelyi, mind lakókörnyezeti vonatkozásban jelentős és még kellően felderített egészségkárosító potenciált jelentenek. További kutatásuk, beleértve az állatkísérletes munkát is, indokolt.

IRODALOM

1. *Balmes, J.R.*: Occupational lung diseases. In: Current Occupational and Environmental Medicine (szerk. J. LaDou.). Lange, New York. 2004. pp. 320-344.
2. *Leach, R.M., Muenster, A.*: Studies on the role of manganese in bone formation. Effect upon the mucopolysaccharide content of chick bone. *J. Nutrition* 1962. 78. 51-56.
3. *Wood, R.J.*: Manganese and birth outcome. *Nutr. Rev.* 2009. 67. 416-420.
4. *Bowler, R., Koller, W., Schultz, P.E.*: Parkinsonism due to manganese in a welder: Neurological and neuropsychological sequelae. *NeuroToxicol.* 2006. 27. 327-332.
5. *Hernandez, E.H., Discalzi, G., Dassi, P. et al.*: Manganese intoxication: The cause of an inexplicable epileptic syndrome in a 3 year old child. *NeuroToxicol.* 2003. 24. 633-639.
6. *Ono, K., Komai, K., Yamada, M.*: Myoclonic involuntary movement associated with chronic manganese poisoning. *J. Neurol. Sci.* 2002. 199. 93-96.
7. *Viaene, M.K., Masschelein, R., Leenders, J. et al.*: Neurobehavioural effects of occupational exposure to cadmium: a cross sectional epidemiological study. *Occup. Environ. Med.* 2000. 57. 19-27.
8. *Thatcher, R.W., McAlaster, R., Lester, M.L.*: Evoked potentials related to hair cadmium and lead in children. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1984. 425. 384-390.
9. *Yargicoglu, P., Agar, A., Sentürk, U.K. et al.*: Effect of chronic cadmium exposure on VEP and EEG spectral components. *Int. J. Neurosci.* 1996. 85. 173-184.
10. *Araki, S., Sato, H., Yokoyama, K. et al.*: Subclinical neurophysiological effects of lead: A review on peripheral, central, and autonomic nervous system effects in lead workers. *Am. J. Int. Med.* 2000. 37. 193-204.
11. *Lille, F., Hazemann, P., Garnier, R., Dally, S.*: Effects of lead and mercury intoxications on evoked potentials. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1988. 26. 103-116.
12. *Schwartz, B.S., Lee, B.K., Lee, G.S. et al.*: Associations of blood lead, dimercaptosuccinic acid-chelatable lead, and tibia lead with neurobehavioral test scores in South Korean lead workers. *Am. J. Epidemiol.* 2001. 153. 453-164.
13. *EN 481.*: Workplace atmospheres. Size fraction definitions for measurement of airborne particles. European Committee for Standardization, Brussels, 1993.
14. *Oberdörster, G., Oberdörster, E., Oberdörster, J.*: Nanotoxicology: An Emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ. Health Persp.* 2005. 7. 823-839.
15. *Elder, A., Gelein, R., Silva, V. et al.*: Translocation of ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. *Environ. Health Persp.* 2006. 114. 1172-1178.
16. *Takenaka, S., Karg, E., Kreyling, W.G. et al.*: Fate and toxic effects of inhaled ultrafine cadmium oxide particles in the rat lung. *Inhal. Toxicol.* 2004. 16 Suppl. 1. 83-92.
17. *Coffigny, H., Thoreux-Manlay, A., Pinon-Lataillade, G. et al.*: Effects of lead-poisoning of rats during pregnancy on the reproductive system and fertility of their offsprings. *Hum. Exp. Toxicol.* 1994. 13. 241-246.
18. *Pinon-Lataillade, G., Thoreux-Manlay, A., Coffigny, H. et al.*: Effect of ingestion and inhalation of lead on the reproductive system and fertility of adult male rats and their progeny. *Hum. Exp. Toxicol.* 1993. 12. 165-172.
19. *Sárközi, L., Szabó, K., Hornyik, T. et al.*: Behavioural and electrophysiological effects of manganese given to rats intranasally in different chemical forms. *Acta Physiol.* 2007. 191 Suppl. 658. 60.
20. *Kandel, E.R., Schwartz, J. H.*: Principles of Neural Science. Elsevier, New York, 1985. pp. 643-644.
21. *Vezér, T., Papp, A., Hoyk, Z. et al.*: Behavioral and neurotoxicological effects of subchronic manganese exposure in rats. *Env. Toxicol. Pharmacol.* 2005. 19. 797-810.
22. *Nagymajtényi, L., Schulz, H., Papp, A., Dési, I.*: Behavioural and electrophysiological changes caused by subchronic lead exposure in rats. *Centr. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 1997. 3. 195-209.
23. *Papp, A., Nagymajtényi, L., Dési, I.*: A study on electrophysiological effects of subchronic cadmium treatment in rats. *Env. Toxicol. Pharmacol.* 2003. 13. 181-186.
24. *Lundborg, M., Eklund, A., Lind, D.B. et al.*: Dissolution of metals by human and rabbit alveolar macrophages. *Brit. J. Ind. Med.* 1985. 42. 642-645.

-
25. Handy, R.D., von der Kammer, F., Lead, J.R. et al.: The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology* 2008. 17. 287-314.
 26. Büsselberg, D.: Calcium channels as target sites of heavy metals. *Toxicol. Lett.* 1995. 82. 255-261.
 27. Takeda, A.: Manganese action in brain function. *Brain Res. Rev.* 2003. 41. 79-89.
 28. Soliakov, L., Wonnacott, S.: Voltage-sensitive Ca²⁺ channels involved in nicotinic receptor-mediated [3H]dopamine release from rat striatal synaptosomes. *J. Neurochem.* 1996. 67. 163-170.
 29. Sandhir, R., Gill, K.D.: Alterations in calcium homeostasis on lead exposure in rat synaptosomes. *Mol. Cell Biochem.* 1993. 131. 25-33.
 30. Carageorgiu, H., Tzotzes, V., Pantos, C. et al.: In vivo and in vitro effects of cadmium on adult rat brain total antioxidant status, acetylcholinesterase, (Na⁺,K⁺)-ATPase and Mg²⁺-ATPase activities: protection by L-cysteine. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2004. 94. 112-118.
 31. Suszkiw, J., Tóth, G., Murawsky, M., Cooper, G.P.: Effects of Pb²⁺ and Cd²⁺ on acetylcholine release and Ca²⁺ movements in synaptosomes and subcellular fractions from rat brain and torpedo electric organ. *Brain Res.* 1984. 323. 31-46.
 32. Normandin, L., Hazell, A.S.: Manganese neurotoxicity: an update of pathophysiologic mechanisms. *Metab. Brain Dis.* 2001. 17. 375-387.
 33. McNeilly, J.D., Heal, M.R., Beverland, I.J. et al.: Soluble transition metals cause the pro-inflammatory effects of welding fumes in vitro. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2004. 196. 95-107.
 34. Zhang, Y., Chen, W., Zhang, J. et al.: In vitro and in vivo toxicity of CdTe nanoparticles. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2007. 7. 497-503.
 35. Adonaylo, V.N., Oteiza, P.I.: Pb²⁺ promotes lipid oxidation and alterations in membrane physical properties. *Toxicology* 1999. 132. 19-32.

ANDRÁS PAPP PHD.

Department of Public Health,

University of Szeged Faculty of Medicine

6720 Szeged, Dóm tér 10.

Tel.: (36-62)-545-119;

Fax: (36-62)-545-120

E-mail: ppp@puhe.szote.u-szeged.hu

Functional neurotoxic alterations in rats after subacute intratracheal administration of metal oxide nanoparticles

Abstract: The pathogenicity of metal containing nanoparticles has newly been recognized. Metal fumes, generated first of all in high-temperature industrial processes, may contain, among others, manganese, cadmium or lead. In the present study, metal oxide (MnO₂, CdO₂, PbO) nanoparticles were synthesized and instilled into the trachea of rats in aqueous suspension for 6 weeks, and the alterations in the spontaneous locomotion, and in various forms of nervous electric activity, were investigated. Untreated and vehicle-treated control, as well as low and high dose treated, rats had their spontaneous motor activity tested in an open field cage. Then, in urethane anaesthesia, spontaneous and stimulus-evoked cortical activity, and compound action potential of the tail nerve were lead off. Motor activity was dissimilarly influenced: local activity and immobility increased, and locomotion and rearing decreased, in the Mn-treated animals. Pb reduced rearing but increased locomotion, and Cd had no clear effect. The spectrum of the spontaneous cortical activity was shifted to higher frequencies, and the latency of the evoked response was lengthened, by all three metals. Nerve conduction was slowed by Mn and Pb. This method may be an adequate animal model of the neurological sequelae of metal fume inhalation. Qualitatively similar alterations may indicate some common mechanism of action of the three metals.

Key words: nanoparticles, manganese, cadmium, lead, neurotoxicity, rat
