

# Nálezy ve vydechovaném vzduchu a v moči u osob s profesní expozicí nanoTiO<sub>2</sub>



DANIELA PELCLOVÁ<sup>1</sup>, ZDENKA FENCLOVÁ<sup>1</sup>, TOMÁŠ NAVRÁTIL<sup>2</sup>, ŠTĚPÁNKA VLČKOVÁ<sup>1</sup>,  
KAMILA SYSLOVÁ<sup>3</sup>, MAREK KUZMA<sup>4</sup>, VLADIMÍR ŽDÍMAL<sup>5</sup>, JAROSLAV SCHWARZ<sup>5</sup>,  
JAN PUŠMAN<sup>5</sup>, NADĚŽDA ZIKOVÁ<sup>5</sup>, PETR KAČER<sup>3</sup>

<sup>1</sup> **Klinika pracovního lékařství 1. LF UK a VFN**

<sup>2</sup> **Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i., Praha**

<sup>3</sup> **Vysoká škola chemicko-technologická, Praha**

<sup>4</sup> **Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha**

<sup>5</sup> **Ústav chemických procesů AV ČR, v. v. i., Praha**

# Biomedicínské aplikace a nežádoucí účinky nanomateriálů.

Shi Y, Li X, 2012

Řada nanomateriálů, včetně uhlíkových, má význačné vlastnosti a nevykazuje téměř žádné toxické účinky *in vivo* a *in vitro*.

**Některé mají dokonce antineoplastické vlastnosti** - mechanismy mají podklad v modulaci oxidativního stresu, snížení krevního zásobování nádorových tkání a aktivaci imunitního systému.

Jak lze ověřit jejich účinek?

# Co víme o účinku nanočástic u člověka?

- - nejsou detailně prostudovány
- Experimentální studie prokazují - **oxidativní stres, pro-zánětlivé účinky a možný vznik plicní fibrózy, plicního emfyzému a/nebo rakoviny.**
- Souhrn experimentálních údajů ukazuje, že u některých téměř trvale vzniká **oxidativní poškození** lipidů buněčných membrán, proteinů, a nukleových kyselin
- **U člověka neexistují cílené studie**
- **Které neinvazivní metody by bylo možno využít pro preventivní prohlídky dělníků s nejvyšší expozicí nanočásticím?**
- MONTEIRO-RIVIERE, N.A., TRAN, C.L. *Nanotoxicology: characterization, dosing and health effects. New York: Informa Healthcare USA, 2007.*
- BAKAND, S., HAYES, A., DECHSAKULTHORN, F. *Nanoparticles: a review of particle toxicology following inhalation exposure. Inhalation Toxicology, 2012*
- KARLSSON, H.L., Gustafsson, J., CRONHOLM, P, MOLLER, L. Size-dependent toxicity of metal oxide particles-a comparison between nano- and micrometer size. *Toxicology Letters* 2009

# Oxidace lipidů membrán – A - přímá



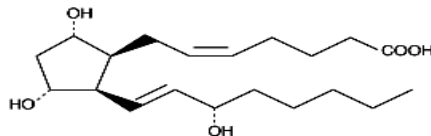
nenasycené mastné kyseliny buněčných membrán

**Kys. arachidonová**



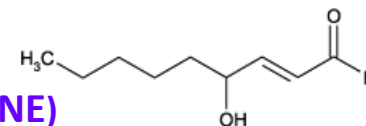
*přímá oxidace - ROS*

**izoprostany (8-izoprostan)**



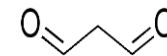
*n-hexanal (C6), n-heptanal (C7), C8,..C13*

*hydroxy-trans-2-nonenal (HNE)*



*přímá oxidace – ROS*

*malondialdehyd (MDA)*



**biologicky aktivní aldehydy  
(C6, C7, C8, C...13, HNE, HHE, MDA)**

# Oxidace membránových lipidů – B - enzymatická



mastné kyseliny buněčných membrán

Kys. arachidonová



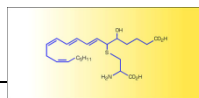
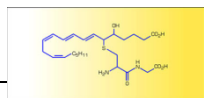
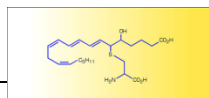
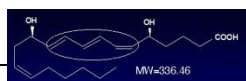
*lipoxygenáza*

**leukotrieny** (3 dvojně vazby)

Markery zánětu

**cysteinylové - LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>**

**LTB<sub>4</sub>**



# STUDIE u dělníků z výroby $\text{TiO}_2$ – únor 2012

PIGMENT s vynikající kryvostí bílého odstínu pro

- barvy, povrchy, plasty, papír, inkousty, potraviny (E-171)- jogurty, cukrovinky, léčiva (tablety), kosmetika, zubní pasty, opalovací krémy.

## VYŠETŘENÍ 20 DĚLNÍKŮ:

34±5 let, 11 kuřáků, 9 nekuřáků

zaměstnání 9±4 roky

**PŘED SMĚNOU**

**PO SMĚNĚ**

## KONTROLNÍ OSOBY

35±5 let, 11 kuřáků, 8 nekuřáků

# **METODY**

**Anamnéza, fyzikální vyšetření**

**Spirometrie**

**Kondenzát vydechovaného vzduchu (KVV)**

**FeNO –vydechovaný NO**

**Moč chemicky**

**Titan v moči**

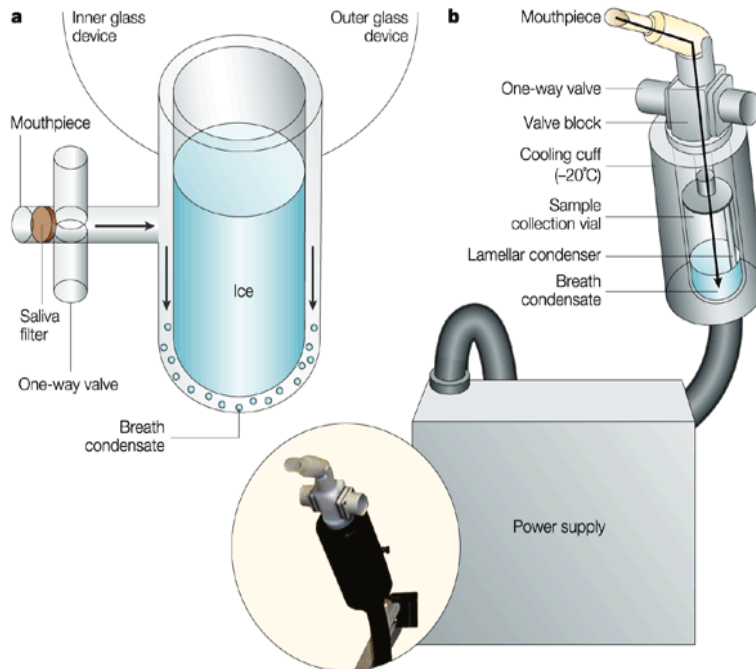
**Ti v KVV**

**Měření prašnosti-aerosolů**

# Odběr kondenzátu vydech. vzduchu (KVV)



System pro neinvazivní sběr látek z dýchacího systému po zkapalnění zchlazením na  $-10^{\circ}\text{C}$  (Jaeger).



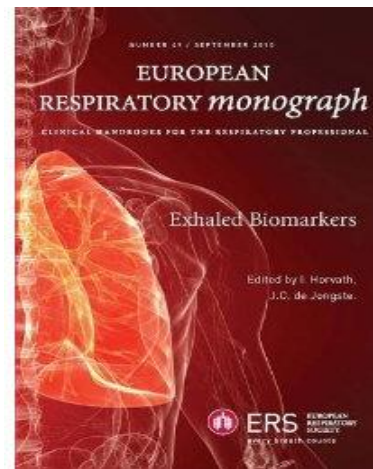
**KVV obsahuje:**

- 1) zkapalňenou vodní páru,
- 2) **částice aerosolu tekutiny z dýchacích cest** uvolněné zvýřením vzduchu
- 1) ve vodě rozpustné látky.



# Metoda vyšetření KVV

*Horvath et al. 2010*



## VÝHODY

- + neinvazivní
- + lze opakovat
- + u dětí, nemocných
- + neovlivněno kouřením

## NEVÝHODY

- vysoká cena LC-ESI-MS/MS analýz
- není standardizována
- kontaminaci slinami vyloučit měřením alfa amylázy
- koncentraci ověřovat měřením konduktivity
- *Effros 2005, Hunt 2012*



# Markery v KVV a moči

analýza LC-ESI-MS/MS



- **C<sub>6</sub>-C<sub>13</sub>**
- **malondialdehyd (MDA)**
- **4-hydroxy-trans-nonenal (HNE)**      **oxidace lipidů**
- **4-hydroxy-trans-hexenal(HHE)**
- **8-isoProstaglandin F<sub>2α</sub> (8-isoprostan)**
- **8-hydroxy-2-deoxyguanosin (8-OHdG)**
- **8-hydroxyguanosin (8-OHG)**      **oxidace nukleových kyselin**
- **hydroxymethyl uracil (HMeU)**
- **o-tyrosin (o-Tyr)**
- **3-chloro-tyrosin (3-Cl-Tyr)**      **oxidace proteinů**
- **nitrotyrosin (NO-Tyr)**
- **leukotrieny LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>**      **markery zánětu**
- **FeNO - frakce vydechaného NO**

# MĚŘENÍ PRAŠNOSTI NA PRACOVÍŠTI

Oxid titaničitý  $\text{TiO}_2$

Expozice  $\text{TiO}_2$  byla na pracovišti monitorována pomocí spektrometrů, a to jak **početní** (pomocí P-TRAK), **hmotnostní** koncentrace (DustTRAK DRX), a ve 4 směnách **velikost částic** v rozpětí **15 nm-10  $\mu\text{m}$** .

**Přes 90 % částic mělo průměr menší než 100 nm.**

## POČETNÍ KONCENTRACE

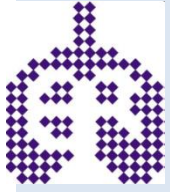
10 000 – 200 000 částic/ $\text{cm}^3$

P-TRAK

## HMOTNOSTNÍ KONCENTRACE

0,1 - 30  $\text{mg}/\text{m}^3$

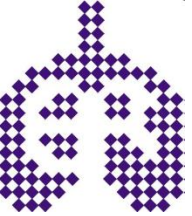
DustTRAK DRX



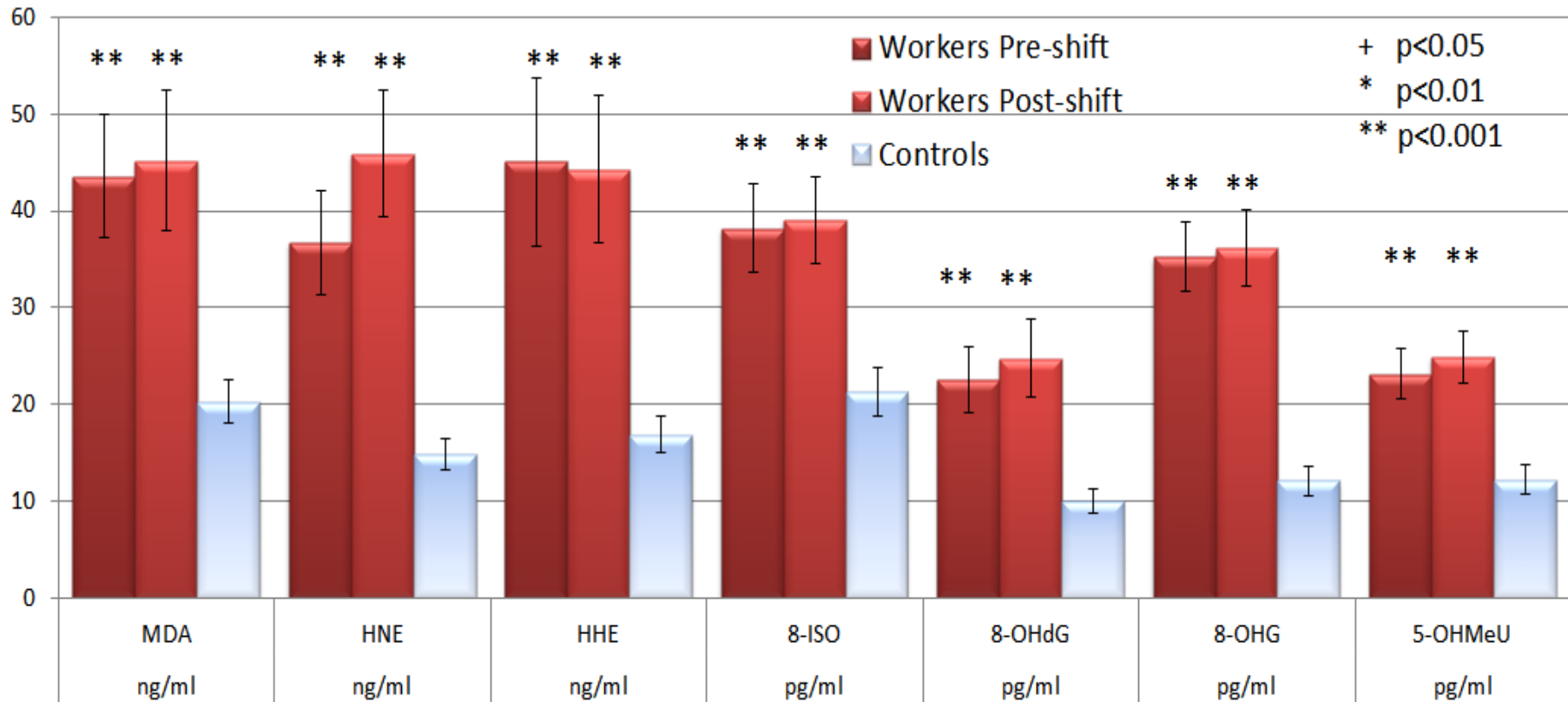
# Titan v KVV a moči

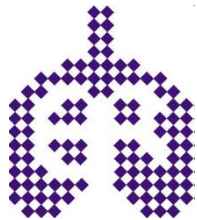


- **Ti v KVV**
- **Ti v moči**  
(RTG Difrakční metodou)

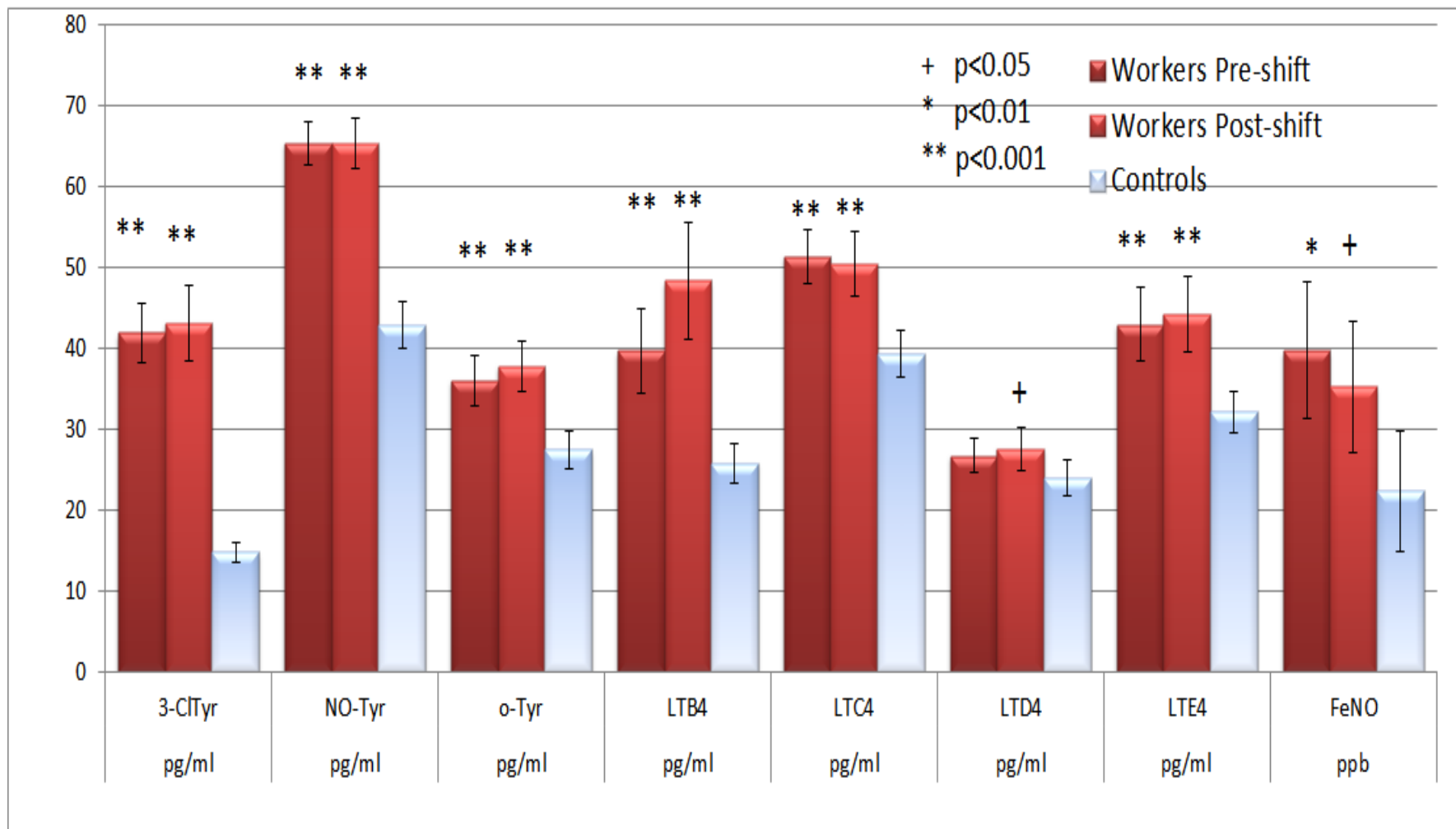


# Oxidační produkty tuků, včetně aldehydů $C_6^{**}$ - $C_{12}^{**}$ a nukleových kyslin v KVV dělníků (před směnou a po směně) a u kontrolních osob





# Oxidační produkty proteinů a leukotrieny v KVV, a FeNO u dělníků (před směnou a po směně) a u kontrolních osob



# FeNO – vydechovaný NO

FeNO	ppb
Dělníci před směnou	40±9*
Dělníci po směně	35±8*
kuřáci	31±8
nekuřáci	45±16*
Kontroly	22±8

<b><i>FeNO</i></b>	<b><i>Interpretace</i></b>
<i>&lt;20</i>	<i>Zánět nepravděpodobný</i>
<i>20-35</i>	<i>Mírný zánět je pravděpodobný</i>
<i>35-50</i>	<i>Prokazatelný zánět</i>
<i>&gt;50</i>	<i>Významný eozinofilní zánět</i>

# MĚŘENÍ KONDUKTIVITY a pH KVV

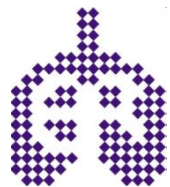
Diluční indikátor - **elektrická vodivost**

-nelišil se od kontrol

**Avšak pH KVV u dělníků mělo nižší pH**

	konduktivita $\mu\text{S/cm}$	pH
Dělníci před směnou	139±46	4,83*
Dělníci po směně	129±31	4,96*
Kontroly	115±22	5,74

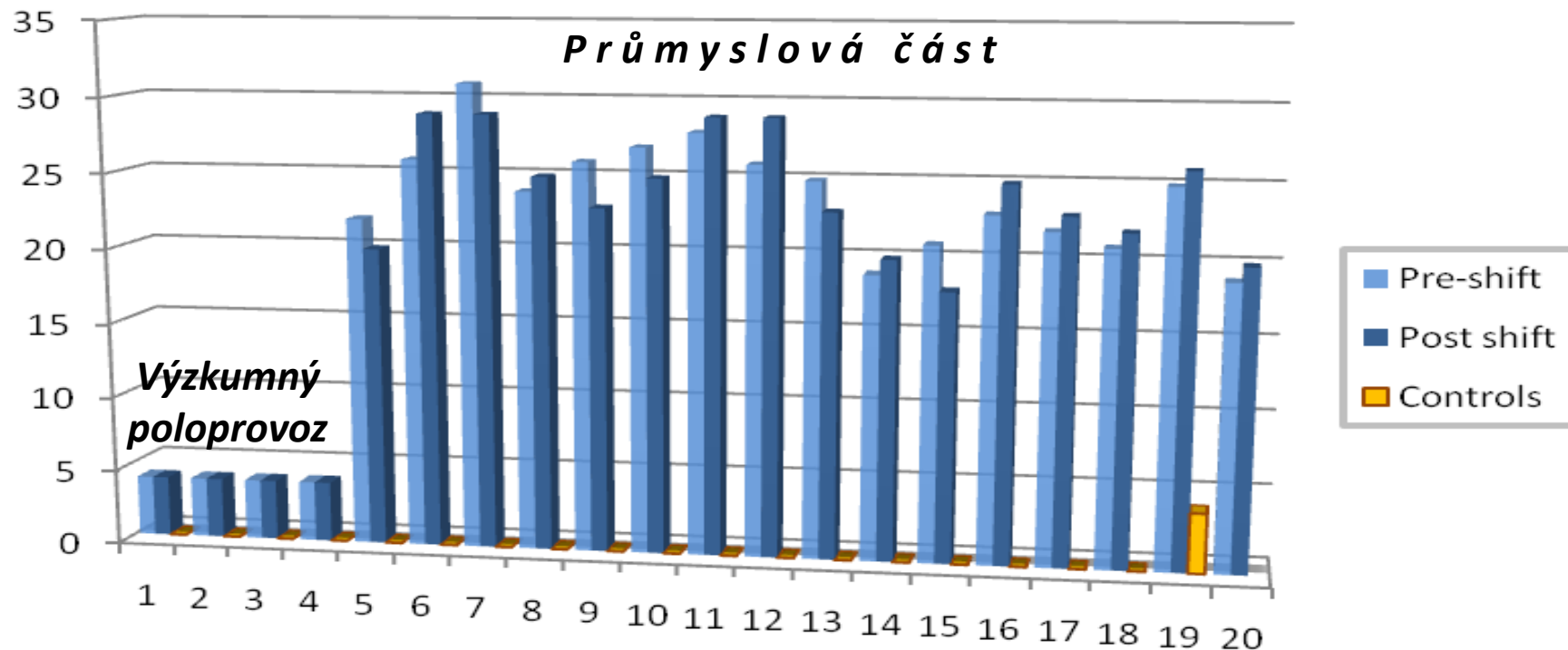




## Titan v KVV ( $\mu\text{g/l}$ )

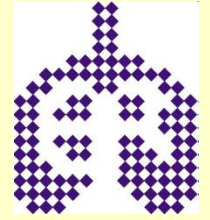
Před směnou  $20,05 \pm 4,09 \mu\text{g/l}$ , po směně  $20,10 \pm 4,15 \mu\text{g/l}$

U 18 kontrolních osob pod mezí detekce



Titan v moči dělníků i kontrol: pod mezí detekce  $2 \mu\text{g/l}$

# Závěr – KVV a FeNO



- u dělníků
- **Titan** v KVV byl významně vyšší
- **Všechny markery** (kromě LTD<sub>4</sub> před směnou) byly významně vyšší
- **FeNO** u dělníků byl významně vyšší, zvl. nekuřáků

# Závěr - Moč



- **U dělníků**
- Titan v moči byl pod mezí detekce
- Markery oxidace C6, C7, C10, C12, HHE, 8-OHG, 3Cl-Tyr byly signifikantně zvýšeny před směnou i po směně ( $p < 0,05$ )

# CO VÝSLEDKY ZNAMENAJÍ?

- Jsou pilotní, u 20 dělníků
- mladých mužů, průměrně 9 let expozice
- Markery byly zvýšeny již před směnou
- po 8 h směně nedošlo k dalšímu zvýšení
- Chronický efekt?
- Skutečně efekt nanočástic?

# ZÁVĚR

- Je třeba více podobných studií
- **Metody jsou vhodné pro vyšetřování osob exponovaných nanočásticím**
- **Preventivní prohlídky**
- **Prevence je lepší než odškodňování nemocí z povolání**