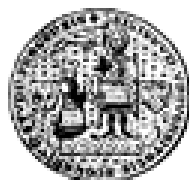


# Nové poznatky o účincích nanočástic na pracovníky výroby a výzkumu



**Prof. MUDr. DANIELA PELCLOVÁ, CSc.**

**Klinika pracovního lékařství VFN a 1. LF UK,**

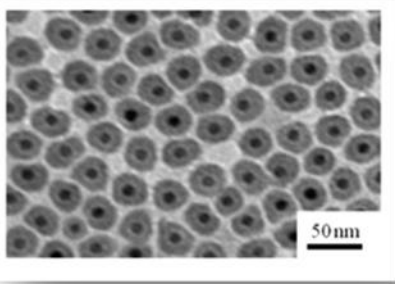
**Praha** 


# Nanočástice



- Exponenciálně stoupá počet aplikací průmyslově vyráběných nanočástic – 3 000 komerčních aplikací
- Průmysl automobilový, stavební, elektronika, textilní, chemický, kosmetika, medicína - cílené léky proti onkologickým onemocněním.
- Experimentální studie – **oxidační stres, zánět, fibróza plic, kardiovaskulární nemoci, rakovina**
- Minimum studií u pracujících **po vdechování**
- **EXISTUJÍ ÚČINKY NA ČLOVĚKA?**
- **LZE JE MONITOROVAT?**

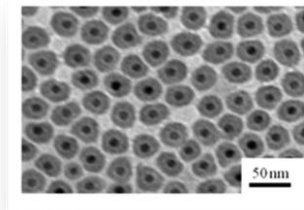
# NANOČÁSTICE



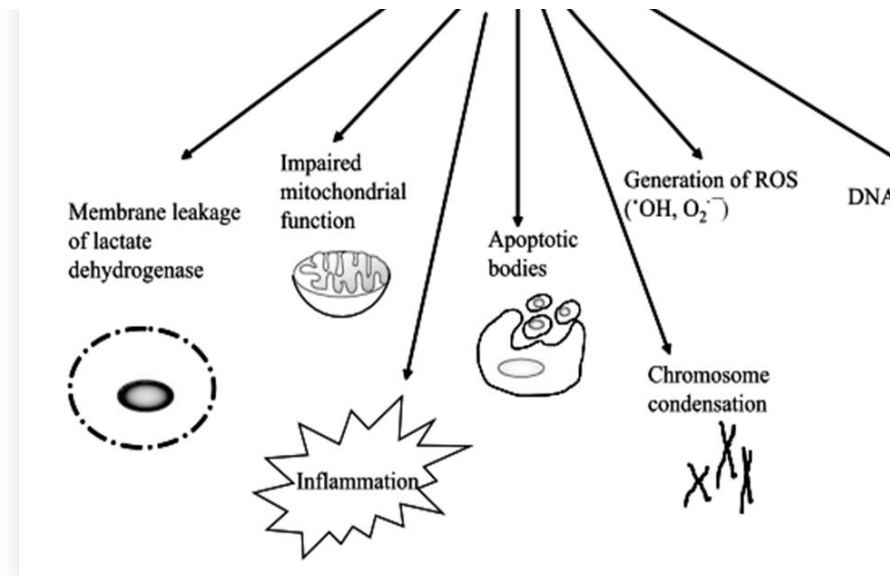
- Výsledky vyšetřování exponovaných osob
- 1- Dělníci z výroby titanové běloby
- 2- Úředníci ze stejného podniku
- 3- Dělníci z výroby pigmentů s Fe oxidy
- 4- Výzkumníci s nanokompozitními materiály
- Myši a potkani 
- Jiní autoři o exponovaných pracovnících



# NANOČÁSTICE (Huang 2017)

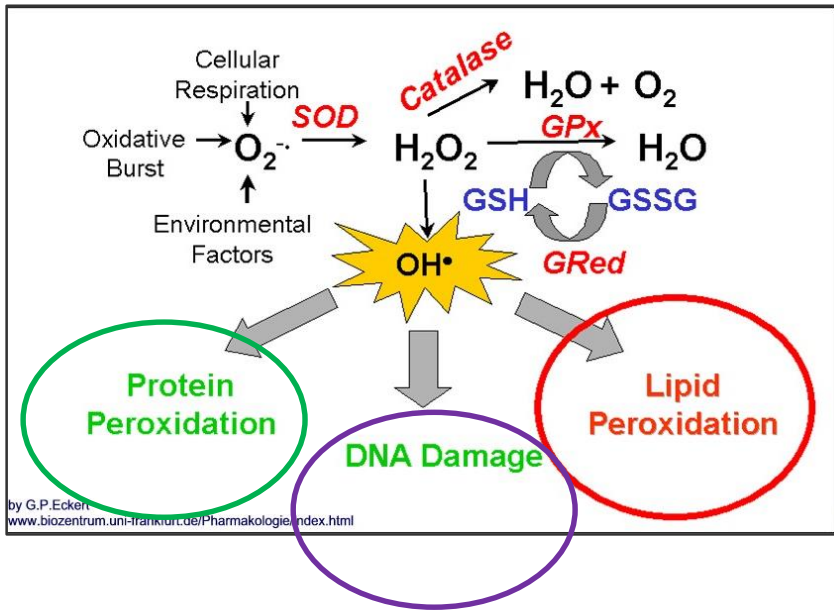


- Unikátní fyzikálně-chemické vlastnosti
- Vyšší reaktivita a cytotoxicita **při vyšším pozitivním povrchovém náboji** – vyšší absorpce, vyšší interakce s negativně nabitými glykosaminoglykany v membráně, s DNA
- Tvar je důležitý - při stejném složení – tyčinky jsou agresivnější
- Velký poměr **povrchu** k celkové hmotnosti
- Snadno vstupují do buňky, mohou procházet **skrze biologické membrány** a bariéry mezi tkáněmi
- Působí zánět a smrt buněk
- Poškozují nukleové kyseliny
- Oxidační stres

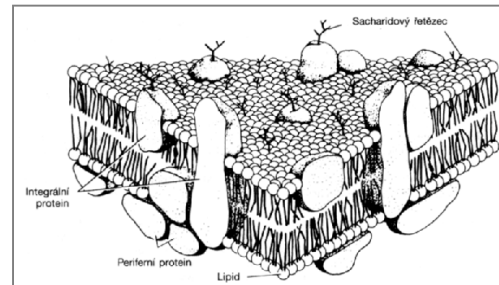


# OXIDACE

## bílkovin, jaderných kyselin a tuků



Oxidace tuků buněčných membrán  
(lipidová dvojvrstva)



Souhrn experimentálních údajů ukazuje, že některé nanočástice působí **oxidativní poškození** lipidů buněčných membrán, proteinů, a nukleových kyselin

*Runa 2017: TiO<sub>2</sub> Nanoparticles Alter the Expression of Peroxiredoxin Antioxidant Genes*

*Huang 2017: The Toxicity of Nanoparticles Depends on Multiple Molecular and Physicochemical Mechanisms*

# MARKERY EFEKTU - OXIDACE LIPIDŮ – přímá oxidace - ROS

nenasycené mastné kyseliny buněčných membrán

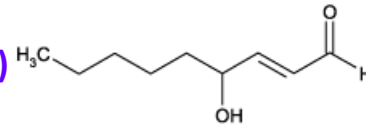
**KYSELINA ARACHIDONOVÁ**

*přímá oxidace – ROS*

**ALDEHYDY**

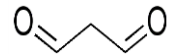
*n-hexanal (C6), n-heptanal (C7), C8,..C12*

hydroxy-trans-2-nonenal (HNE)



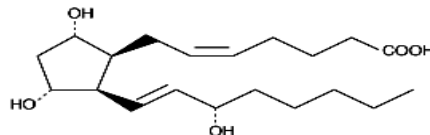
hydroxy-trans-2-nonenal (HNE)

malondialdehyd (MDA)



**BIOLOGICKY AKTIVNÍ ALDEHYDY  
(C6, C7, C8, C...12, HNE, HHE, MDA)**

**IZOPROSTANY(8-isoprostan)**



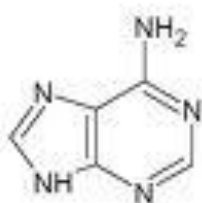
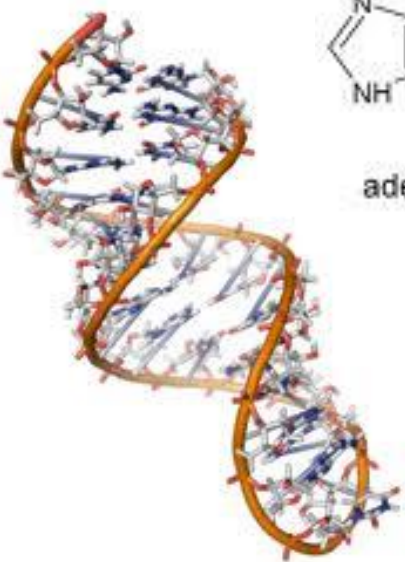
**MARKERY OXIDAČNÍHO STRESU**



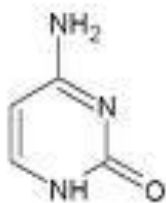
*přímá oxidace - ROS*

# Metabolity nukleových kyselin

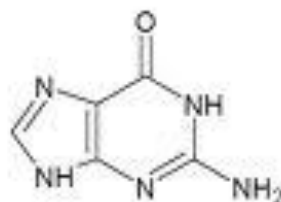
## Stavební součásti nukleových kyselin a jejich oxidace



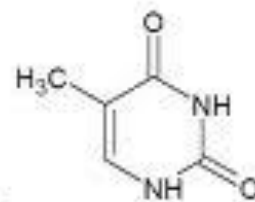
adenin - A



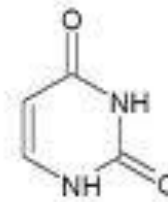
cytosin - C



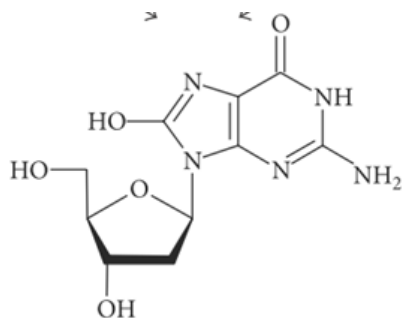
guanin- G



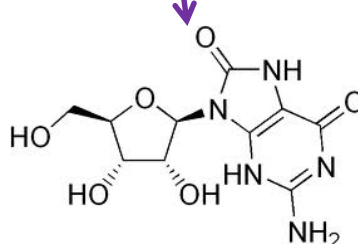
thymin - T



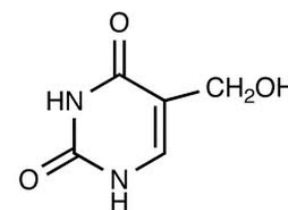
uracil - U



**8-hydroxy-2'-deoxyguanosin**  
**8-OHdG (DNA)**



**8-hydroxyguanosin**  
**8-OHG (DNA)**

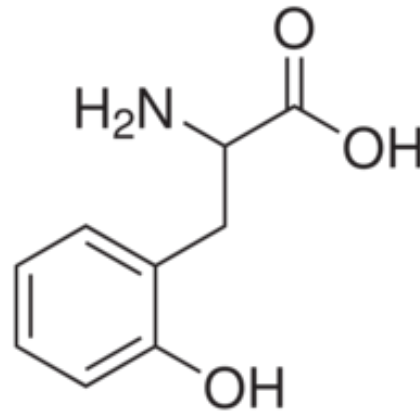
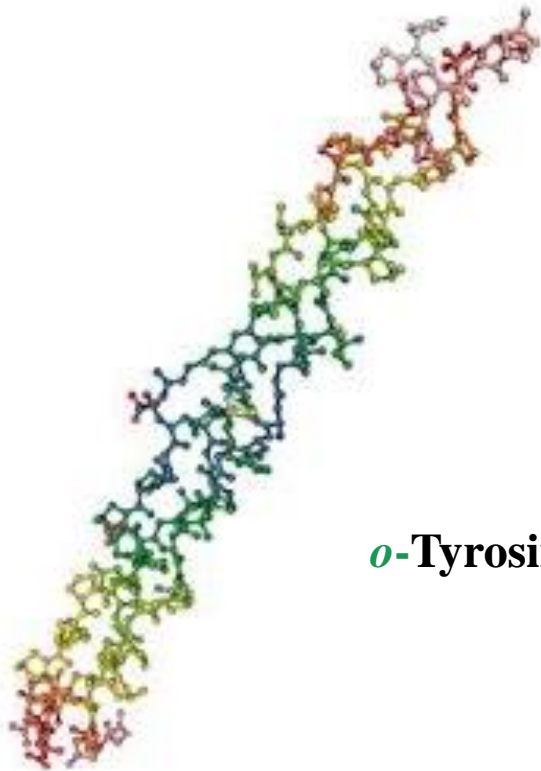


**5-hydroxymethyluracil**  
**5-OHMeU (RNA)**

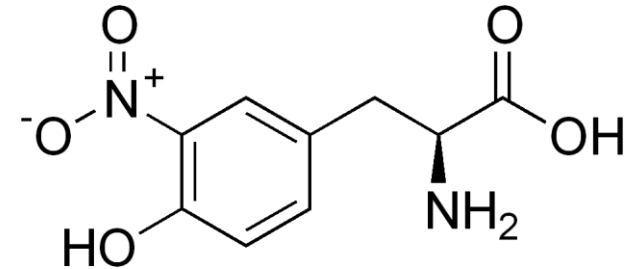


# BÍLKOVINY = PROTEINY

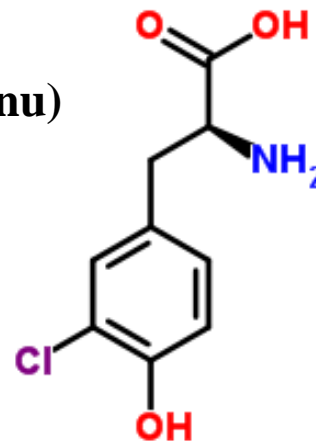
## Produkty oxidace a přeměny bílkovin



***o*-Tyrosin (oxidace fenylalaninu)**



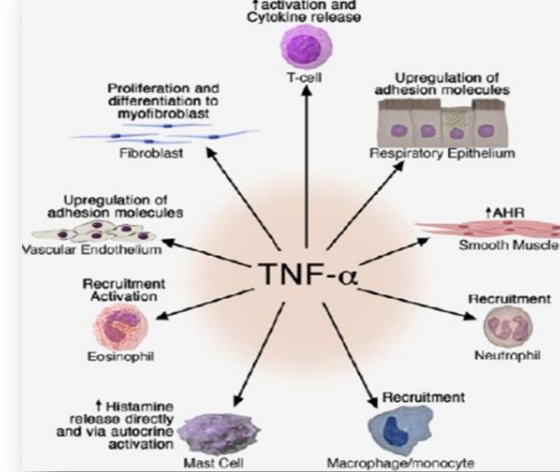
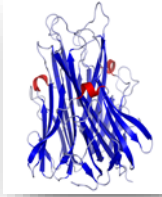
**3-Nitrotyrosin**  
– nitrace tyrosinu



**3-Chlorotyrosin** –oxidace tyrosinu - HClO myeloperoxidázou  
uvolněnou z leukocytů



# TUMOR NECROSIS FACTOR

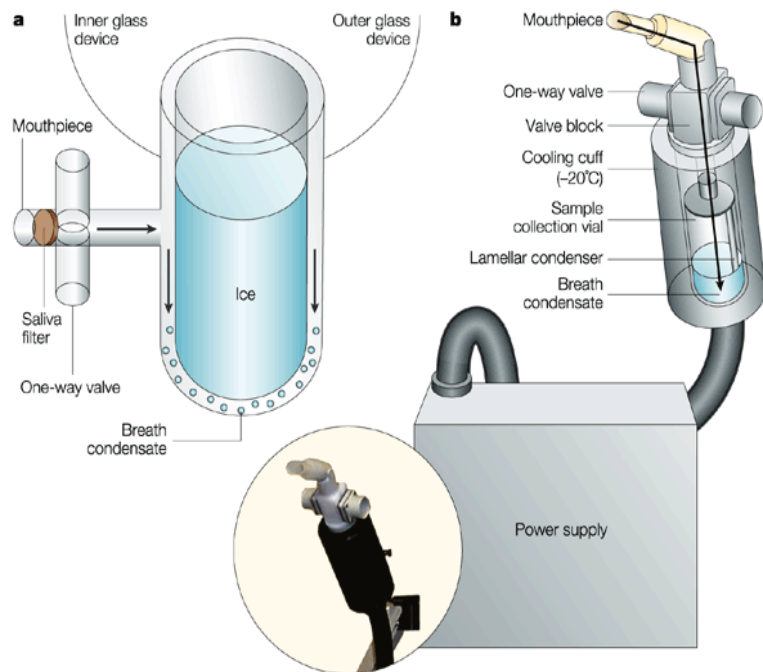


- cytokin **systemového zánětu**
- Regulace imunitní odpovědi buněk
- Produkován hlavně aktivovanými makrofágy, buňkami endotelu, myokardu, tukové tkáně, fibroblasty,...
- **Reakce akutní fáze – vysoká koncentrace TNF** indukuje zánět (endogenní pyrogen), horečku, otok, zčervenání, bolest, ztrátu funkce
- **Protrahovaná odpověď na nízké koncentrace TNF** – apoptóza a smrt buněk, kachexie, „wasting syndrome“ – u pacientů s nádory.

# Odběr kondenzátu vydech. vzduchu (KVV)



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

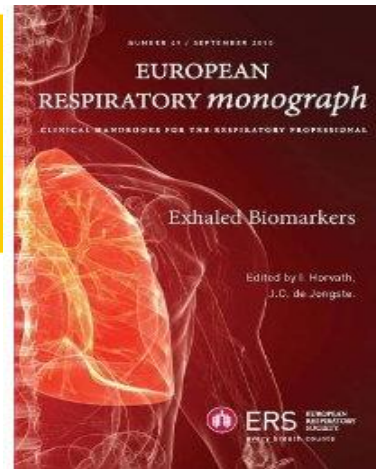


**KVV obsahuje:**

- 1) 99 % zkapalněnou vodní páru
- 2) kapičky aerosolu tekutiny z dýchacích cest uvolněné vířením vzduchu při stažení terminálních bronchiolů v expiriu

# Metodika KVV

*Horváth et al. 2010*



## VÝHODY

- + nebolí
- + 15 min dýchání obtěžuje málo
- + lze opakovat
- + děti, pacienti s nemocemi plic
- + nesnižuje se kouřením
- + přenosná

## NEVÝHODY

- Nízké koncentrace markerů
- cena analýz
- LC-ESI-MS/MS, proteomika

# Analýza vzorků biologického materiálu LC/MS/MS

- Identifikace biomolekul



ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

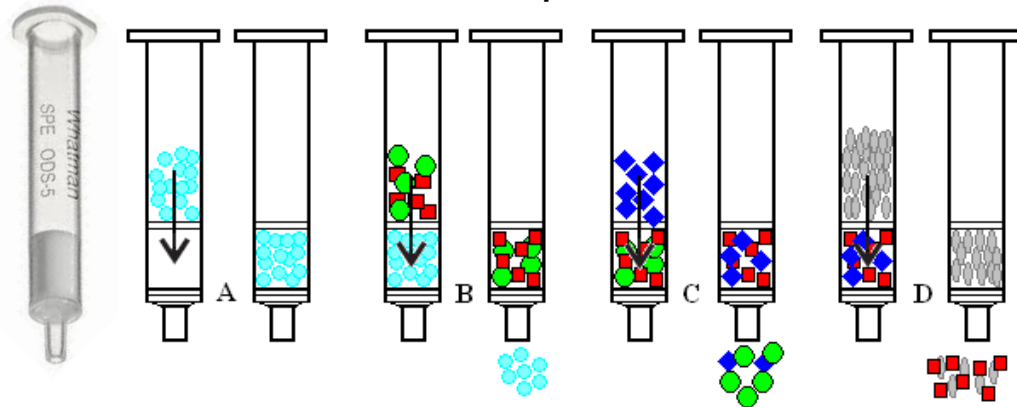


LC-MS ANALÝZA  
VZORKŮ



KVANTITATIVNÍ  
A KVALITATIVNÍ  
VYHODNOCENÍ DAT

Odsolení a zakoncentrování vzorků  
Extrakce na pevné fázi



Analýza kapalinovou chromatografií  
spojenou s hmotnostní spektrometrií  
TSQ Vantage, LTQ Orbitrab



# Měřené látky v kondenzátu vydechovaného vzduchu



- malondialdehyd (MDA)
- 4-hydroxy-trans-nonenal (HNE)
- 4-hydroxy-trans-hexenal (HHE)
- 8-isoProstaglandin F<sub>2α</sub> (8-isoprostan)
- aldehydy C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>

- 8-hydroxy-2-deoxyguanosin (8-OHdG)
- 8-hydroxyguanosin (8-OHG)
- hydroxymethyl uracil (5-OHMeU)

- o-tyrosin (o-Tyr)
- 3-chloro-tyrosin (3-ClTyr)
- nitrotyrosin (3-NO<sub>2</sub>Tyr)

- leukotrieny B<sub>4</sub>, C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub>, E<sub>4</sub>
- arachidonová kys. → nestabilní LTA<sub>4</sub> 4-hydroxyláza → LTB<sub>4</sub> (exacerbace CHOPN, kouření)
- LTC<sub>4</sub> syntetáza → LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub> (bronchospasmus)
- Interleukiny,
- TNF
- Lipoxiny A, B

## TUKY

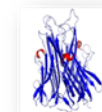
- cytotoxické a genotoxické aldehydy
- kovalentní addukty s NA a proteiny



## JADERNÉ KYSELINY



## BÍLKOVINY



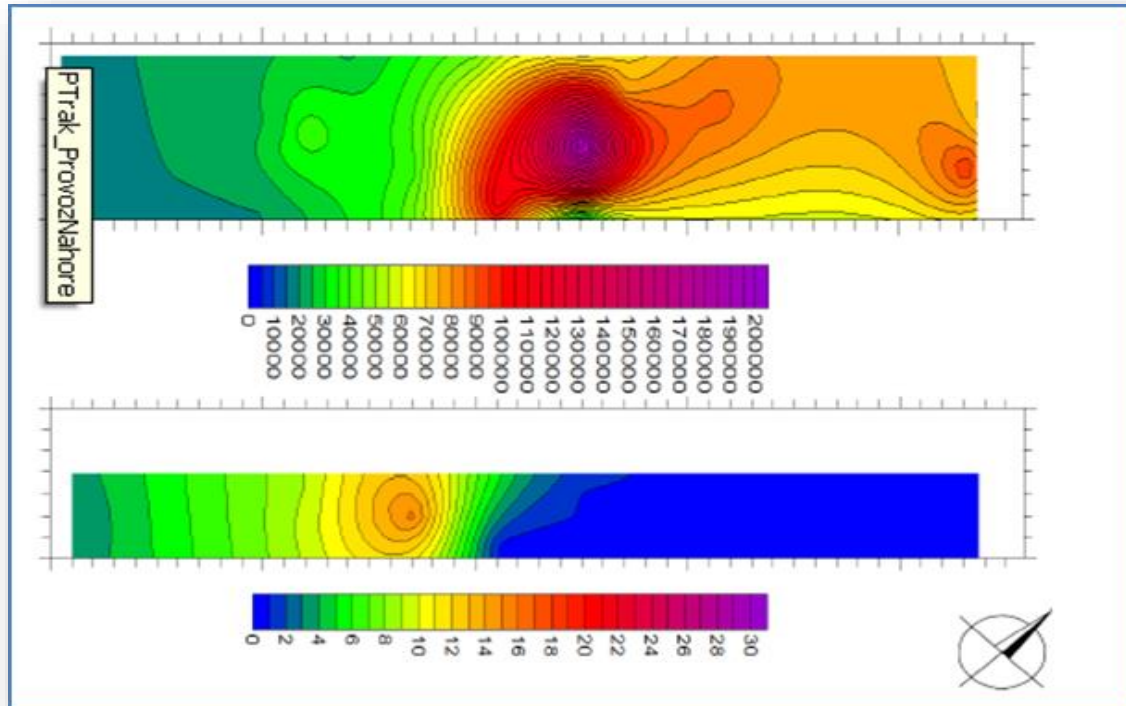
ZÁNĚT, ASTMA

# 1 VÝROBA PIGMENTU $\text{TiO}_2$

Početní koncentrace (P-TRACK)

Hmotnostní koncentrace (Dust-TRACK)

**80 % ČÁSTIC v oblasti nano**

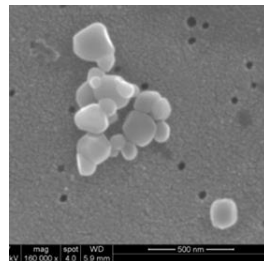




# TiO<sub>2</sub> - Titania

- užívá se ve více než 170 zemích
- Více než 60 velkých výrobců ve světě (kromě Číny),
- roční výroba nad 60 000 tun (IARC 2010).
  
- **Pigment – titania white**
- 80% užití – barvy, laky, papír, plastické hmoty
  
- **Kosmetika** – zubní pasty, deodoranty, opalovací krémy (až 10% TiO<sub>2</sub>)
- 
- **potravinová aditiva E-171**
- žvýkačky, bonbóny, mléko
- coffee creamers
- 36% nano- rozměr
- (Weir 2012)

Transparentní opalovací krémy  
částice velikosti 60-100 nm



# VÝROBA PIGMENTU $\text{TiO}_2$

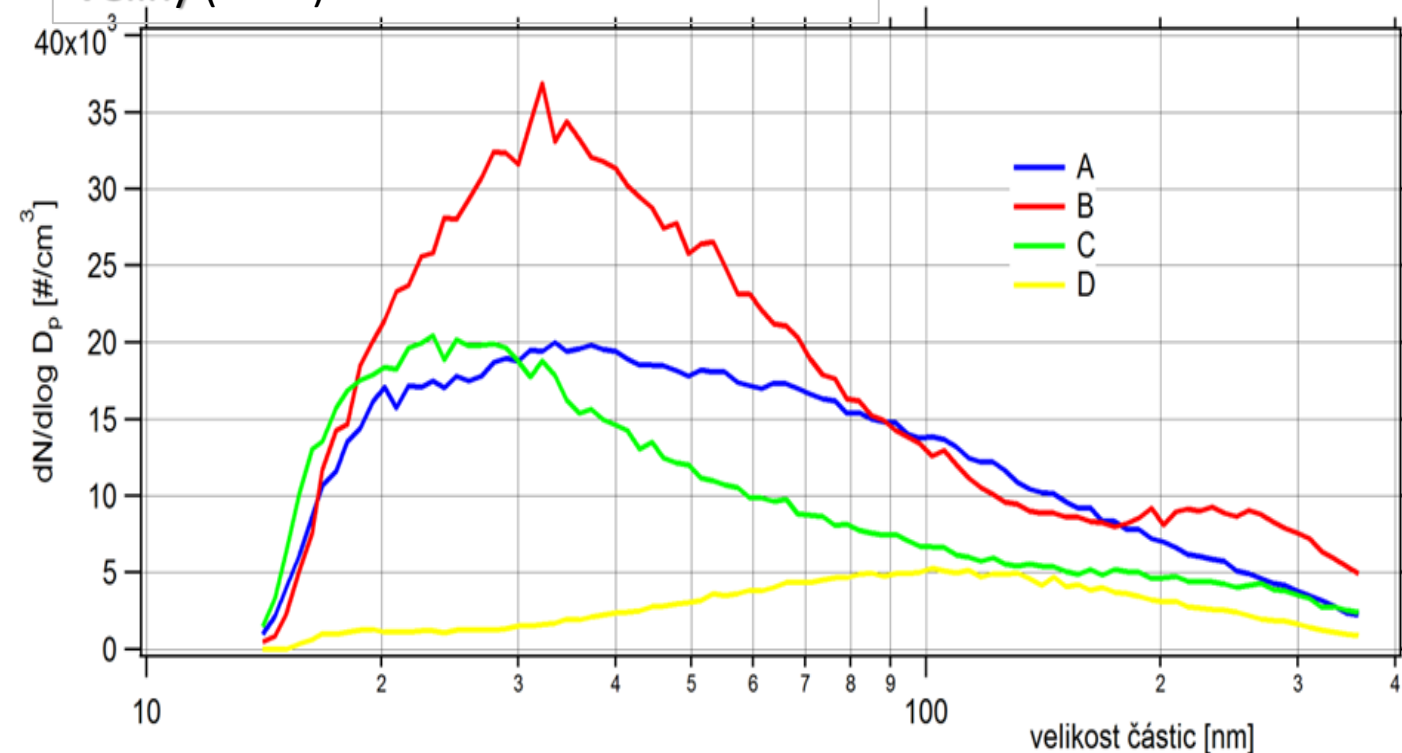
Měření aerosolu pomocí SMPS a APS  
po dobu celé směny na 4 místech

Mikronizace = mletí

Kalcinace = zahřívání na  $900^\circ\text{C}$

Transport

Velíny (žlutá)





SMPS - scanning mobility particle sizer - VĚTŠINA ČÁSTIC do 100 nm





# Vyšetření 2012 a 2013

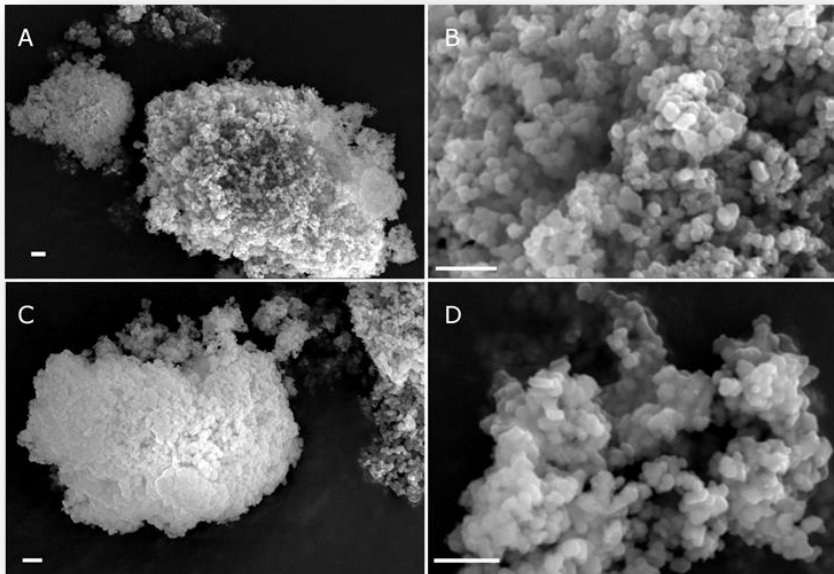
	Expozice	Počet osob	Věk	Kuřáci
<b>TiO<sub>2</sub> 2012</b> Před-směnou Po směně		20	34±8	55 %
<b>TiO<sub>2</sub> 2013</b> Po směně		14	34±5	50 %
<b>TiO<sub>2</sub> úředníci</b>		22	44±4	4,5 %
<b>Kontrolní osoby 2012+2013</b>		20+35	38±8	50 %

# Analýza sedimentovaného prachu $\text{TiO}_2$

**Scanning electron microscopy (SEM)** X-ray diffraction patterns  
agglomerated/aggregated partiles

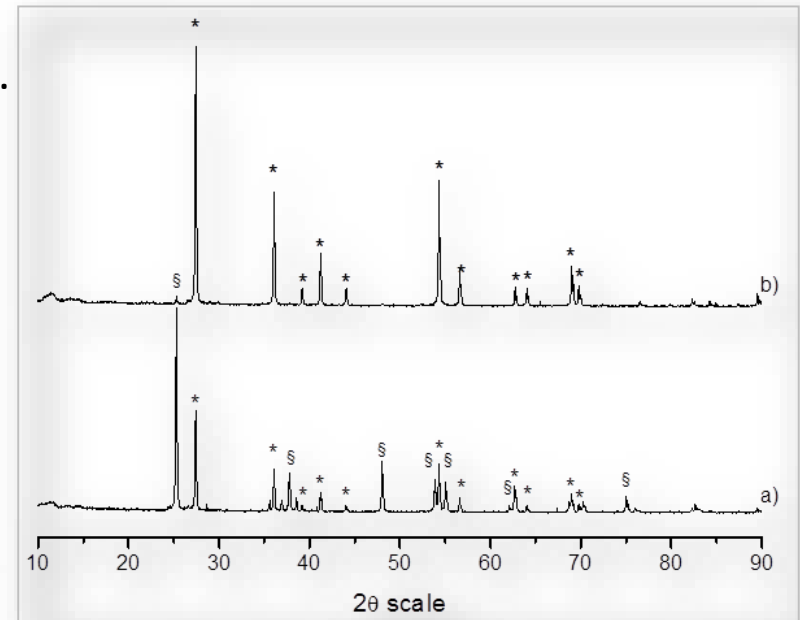
**Kalcinační pec (A, B)**

**Mikronizační jednotka unit (C, D)**



bar: 1  $\mu\text{m}$

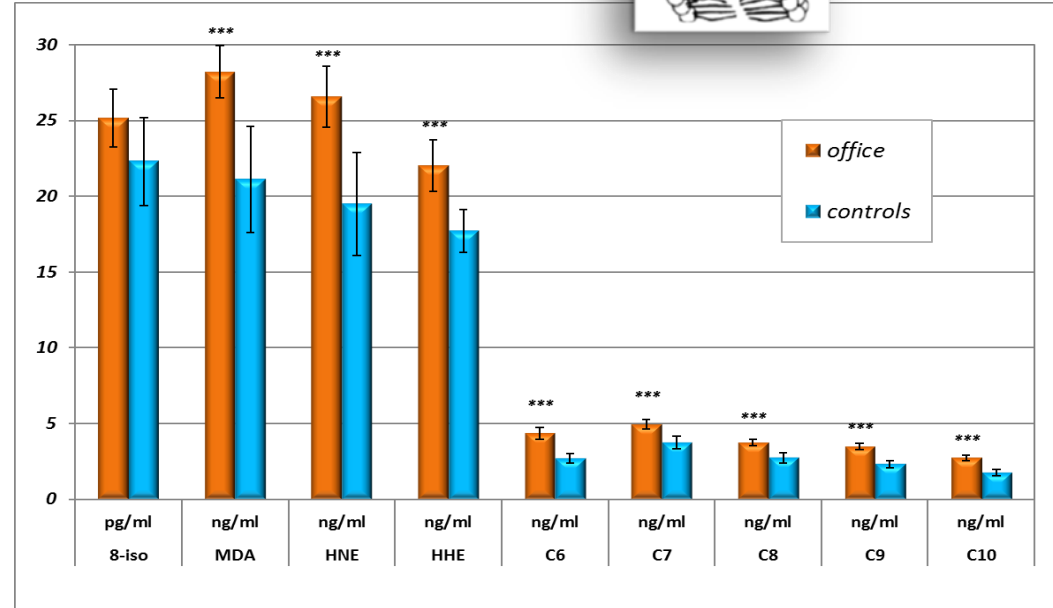
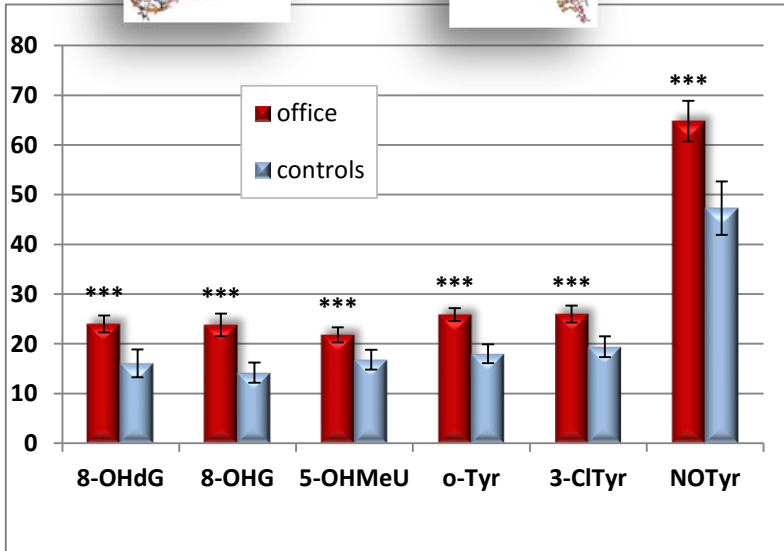
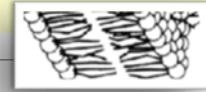
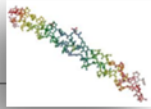
**Calcination furnace (anatase:rutile 2:1)**  
**Micronisation unit (rutile)**



§ anatase \*rutile peaks



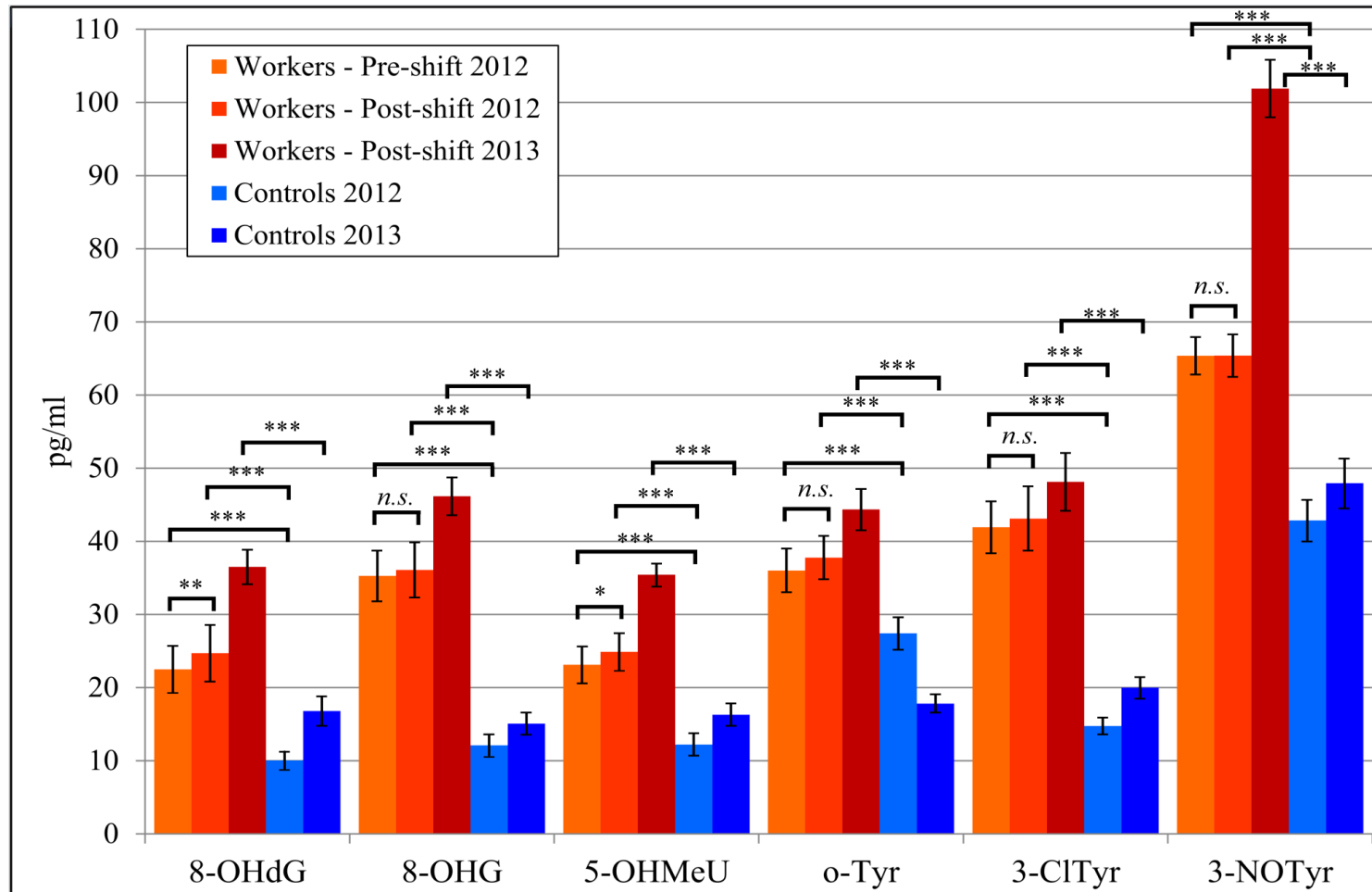
# Vyšetření úředníci TiO<sub>2</sub> 2013



Pelcova D, Zdimal V, Kacer P, Vlckova S, Fenclova Z, Navratil T, Komarc M, Schwarz J, Zikova N, Makes O, Zakharov S. Markers of **nucleic acids and proteins oxidation** among office workers exposed to air pollutants including (nano)TiO<sub>2</sub> particles. *Neuro Endocrinol Lett.* 2016

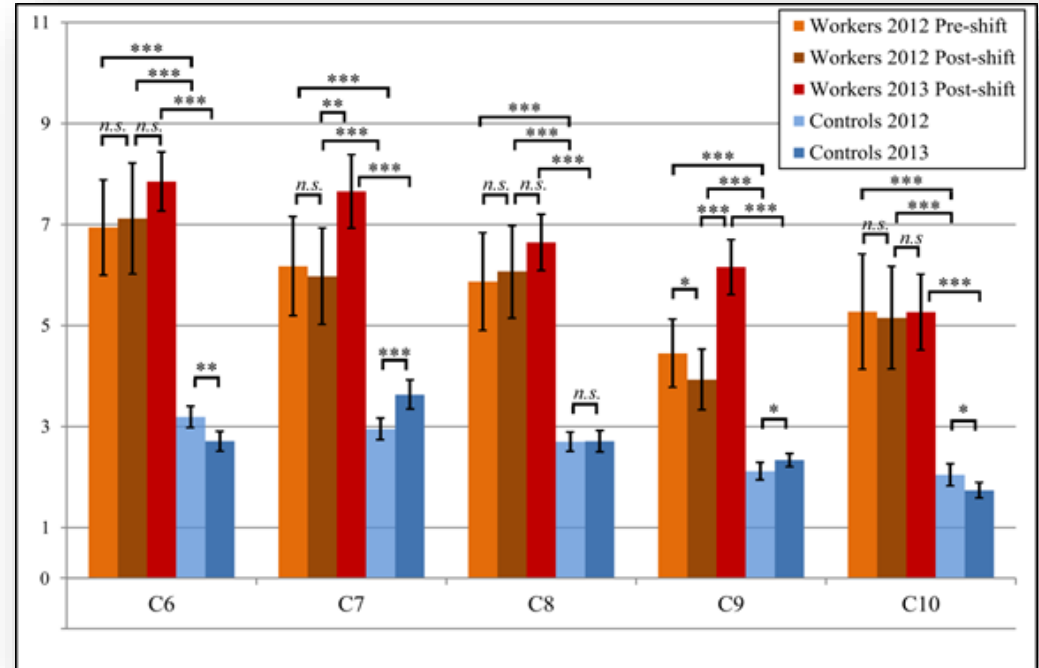
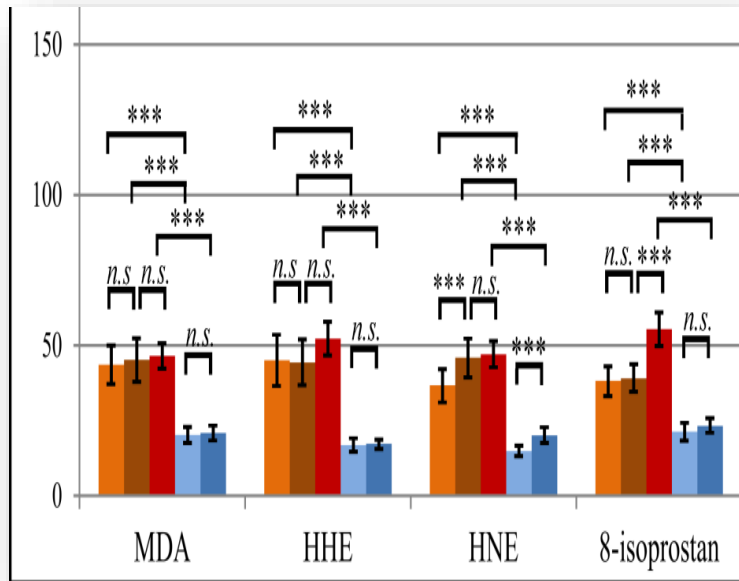
Pelcova D, Zdimal V, Kacer P, Komarc M, Fenclova Z, Vlckova S, Zikova N, Schwarz J, Makes O, Navratil T, Zakharov S, Bello D. Markers of **lipid oxidative damage** among office workers exposed intermittently to air pollutants including nanoTiO<sub>2</sub> particles. *Rev Environ Health.* 2017

# Rozdíly u **exponovaných** TiO<sub>2</sub> x **kontroly**



Pelcova D, Zdimal V, Fenclova Z, Vlckova S, Turci F, Corazzari I, Kacer P, Schwarz J, Zikova N, Makes O, Syslova K, Komarc M, Belacek J, Navratil T, Machajova M, Zakharov S. Markers of oxidative damage of nucleic acids and proteins among workers exposed to TiO<sub>2</sub>(nano) particles. *Occup Environ Medicine* 2016

# Rozdíly u exponovaných TiO<sub>2</sub> x kontroly



Pelcova D, Zdimal V, Kacer P, Zikova N, Komarc M, Fenclova Z, Vlckova S, Schwarz J, Makeš O, Syslova K, Navratil T, Turci F, Corazzari I, Zakharov S, Bello D. Markers of lipid oxidative damage in the exhaled breath condensate of nano TiO<sub>2</sub> production workers. *Nanotoxicology* 2017

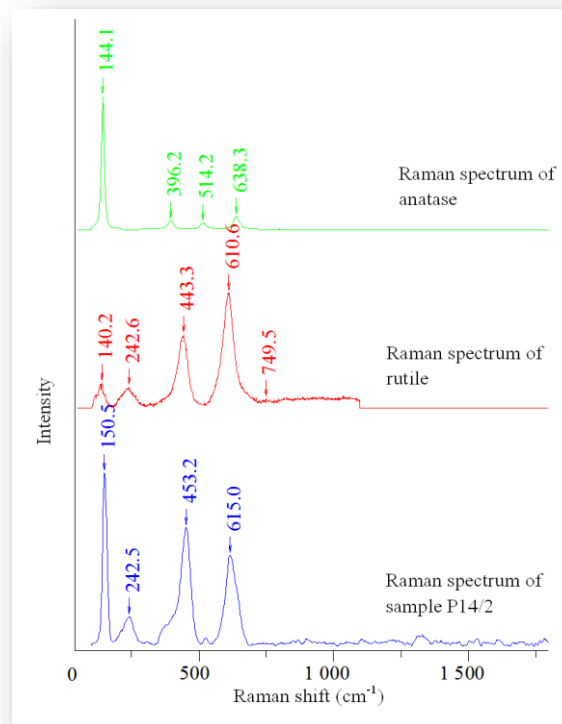
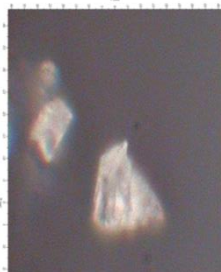
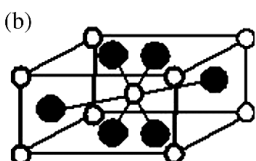
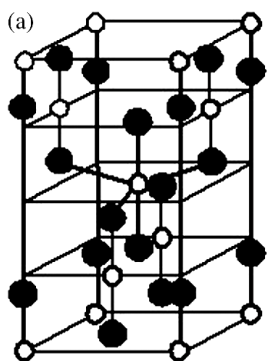
# Ramanova mikrospektroskopie potvrdila krystaly $\text{TiO}_2$ v kondenzátu a určila chemické složení

**u 40 % dělníků před směnou!**  
**u 70 % po směně**



a) anatas

b) rutil



*Pelcova D, Barosova H, Kukutschova J, Zdimal V, Navratil T, Fenclova Z, Vlckova S, Schwarz J, Zikova N, Kacer P, Komarc M, Belacek J, Zakharov S.: Raman microspectroscopy of exhaled breath condensate and urine in workers exposed to fine and nano  $\text{TiO}_2$  particles: a cross-sectional study. J Breath Research 2015*

# 2 Fe oxidy 2013

## MĚŘENÍ EXPOZICE NA PRACOVÍŠTI



80 % částic do 100 nm



# Vyšetření 2013

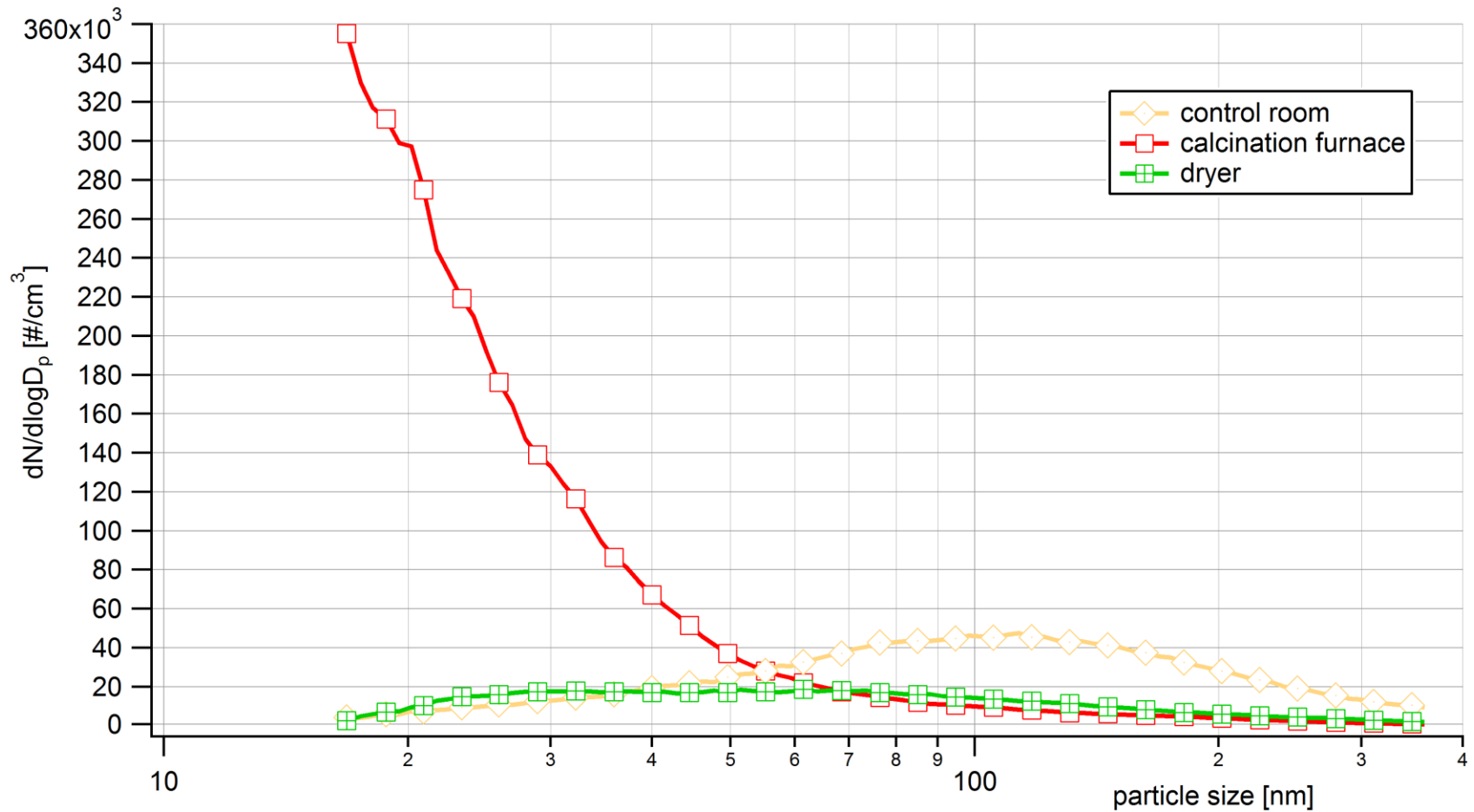


	Expozice	Počet osob	Věk	Kuřáci
<b>Fe-oxidy</b> <b>Po směně</b>		<b>14</b>	<b>43±7</b>	<b>43 %</b>
<b>Kontroly</b>		<b>14</b>	<b>39±4</b>	<b>50 %</b>

*Pelclova D, Zdimal V, Kacer P, Fenclova Z, Vlckova S, Syslova K, Navratil T, Schwarz J, Zikova N, Barosova H, Turci F, Komarc M, Pelcl T, Belacek J, Kukutschova J, Zakharov S. Oxidative stress markers are elevated in exhaled breath condensate of workers exposed to nanoparticles during iron oxide pigment production. J Breath Research 2016*

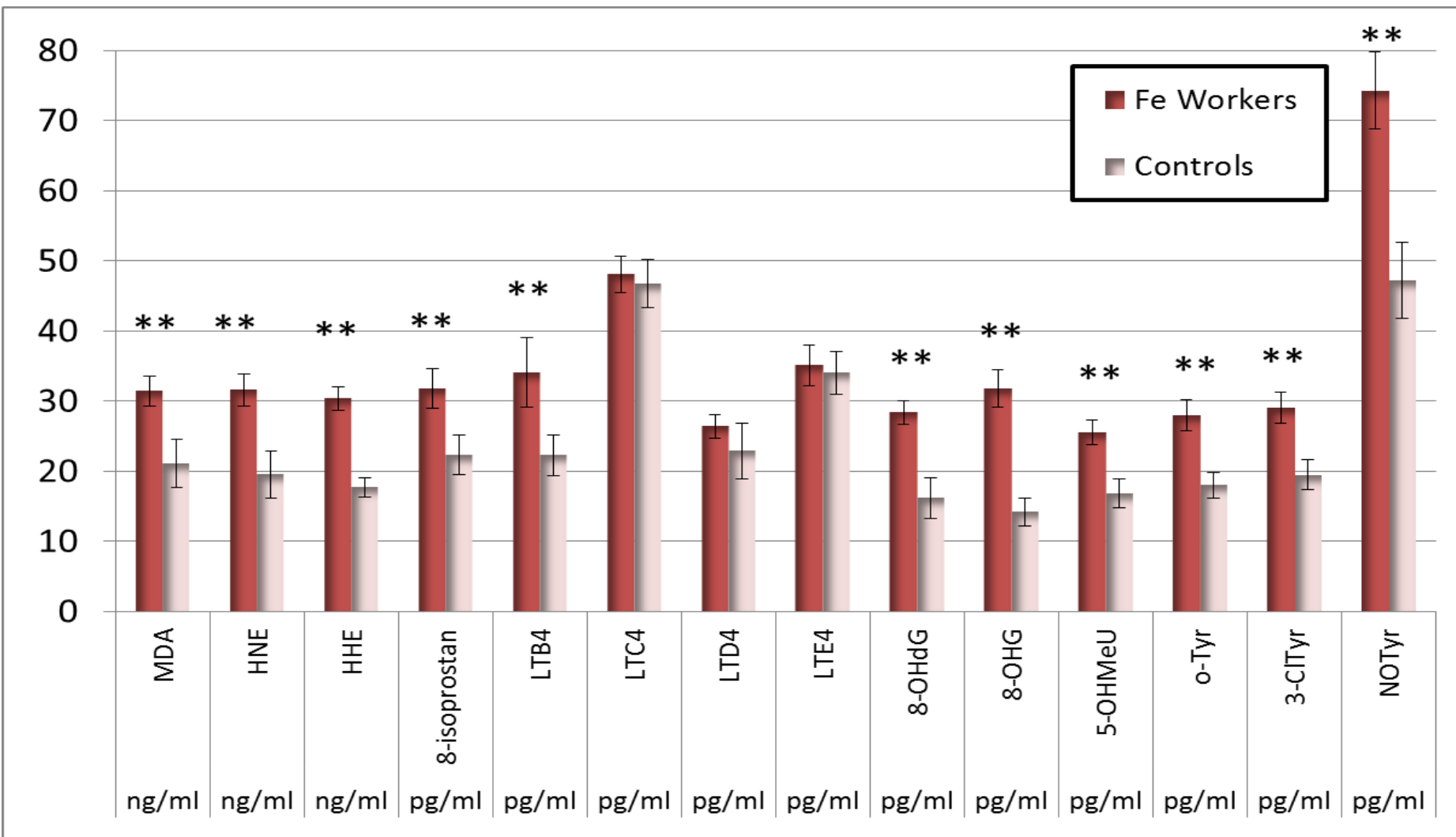


# Výroba Fe-oxidů - většina částic má do 100 nm



# Fe oxidy - markery v koncentráte vydechovaného vzduchu vs. kontroly

*(markery nižší než u dělníků s TiO<sub>2</sub>)*



# 3 Nanokompozitní materiály 2015 -2017

- Hledání alternativních materiálů s vlastnostmi typickými pro ocel - s tvrdostí, odolností proti poškrábání,
  - - nízkou termální roztažností
- Použití – u automatických měřících technik **měřících plasty**, kde nelze použít kovové materiály pro vysokou chybovost kvůli tepelné roztažnosti a možnosti poškození povrchu.
- **2016**
- **20 zaměstnanců ( $42 \pm 11$  let),  $18 \pm 10$  let expozice**
- **21 kontrol ( $43 \pm 12$  let)**



# Hmotnostní koncentrace

- nejvyšší u Svařování **Svařování**

Bernerův Low-Pressure kaskádní impaktor,  
umožňujícím separování velikostních frakcí,

**Svařování** 1,840 mg/m<sup>3</sup>

**Broušení** 0,804 mg/m<sup>3</sup>

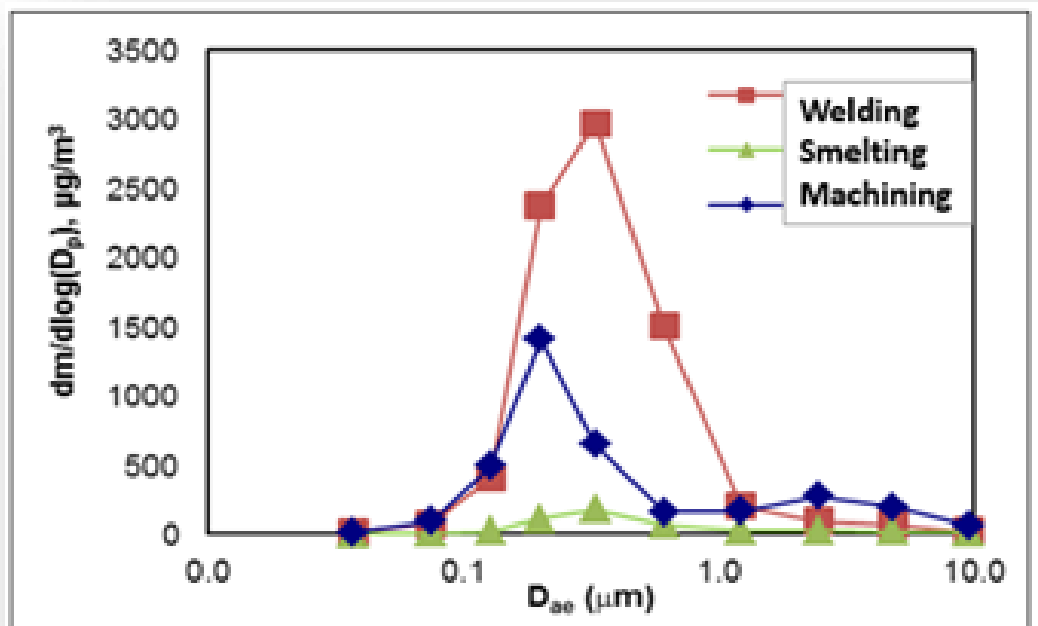
**Slévání** 0,120 mg/m<sup>3</sup>



**Broušení**



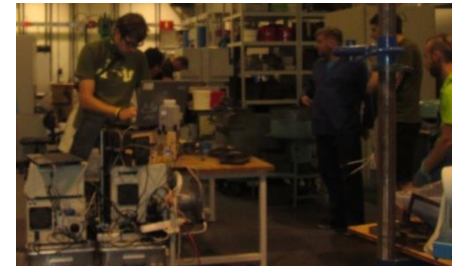
**Slévání**



# Početní koncentrace v nano % - nejvyšší u slévání (96,8%)

	<25 nm	25 - 100 nm	Do 100 nm	100 nm - 1 µg
Svařování	3,1 %	34,1 %	37,2 %	55,4 %
Broušení	2,5 %	57,2 %	59,7 %	37,8 %
Slévání	71,2 %	25,6 %	96,8 %	5,5 %

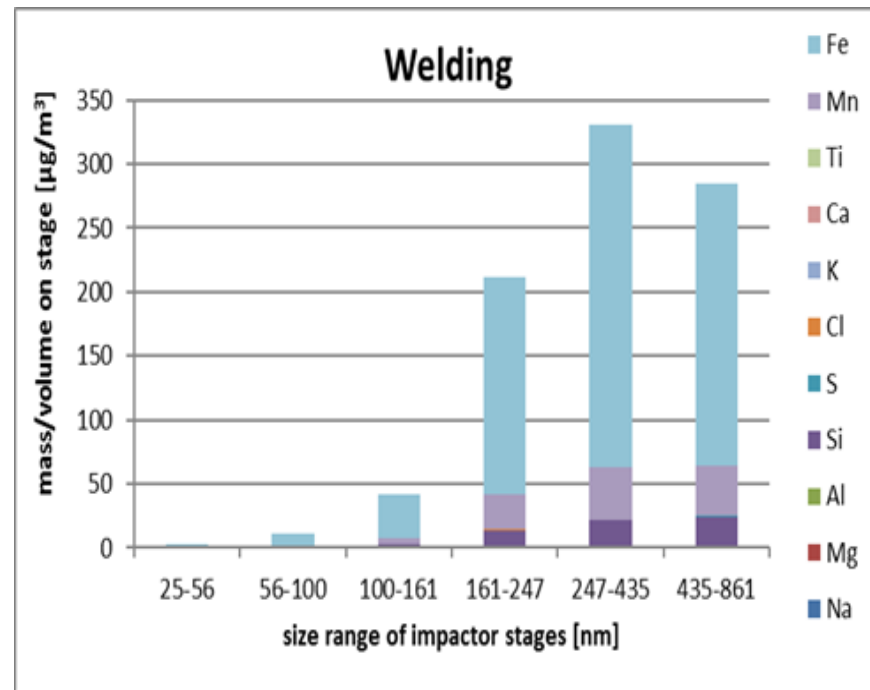
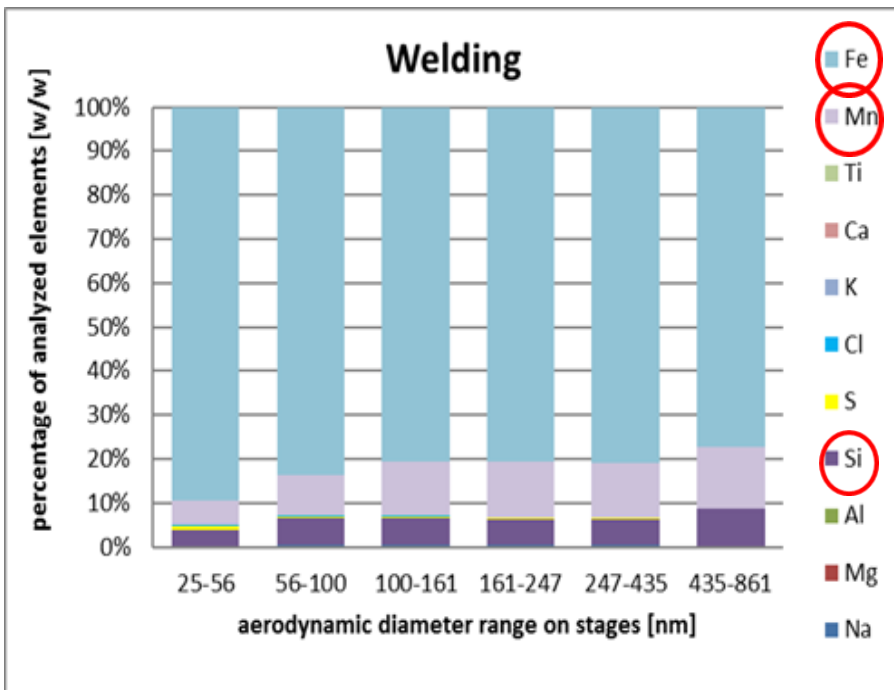
## Slévání



# Chemické složení

- relativní (%) a absolutní množství ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

## SVAŘOVÁNÍ



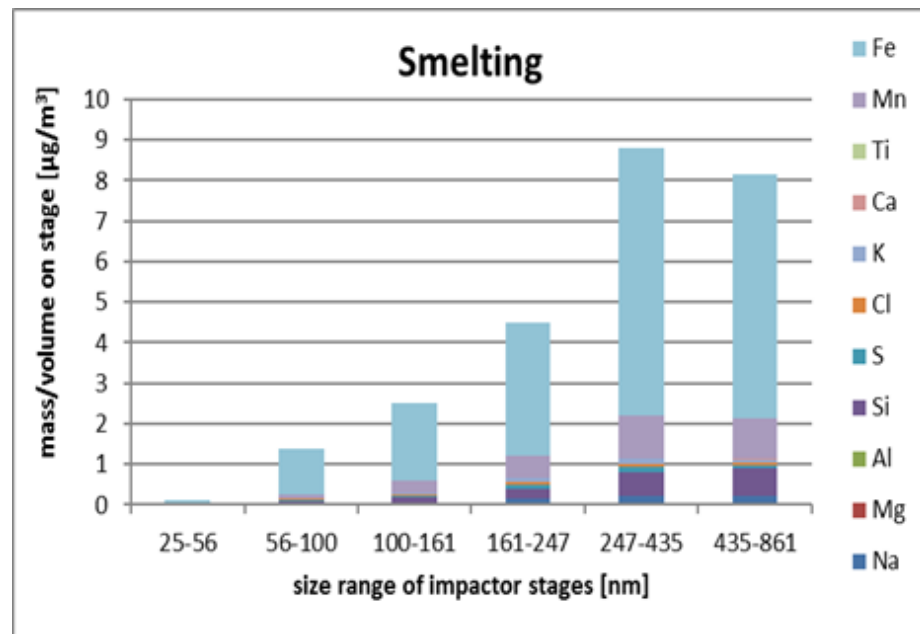
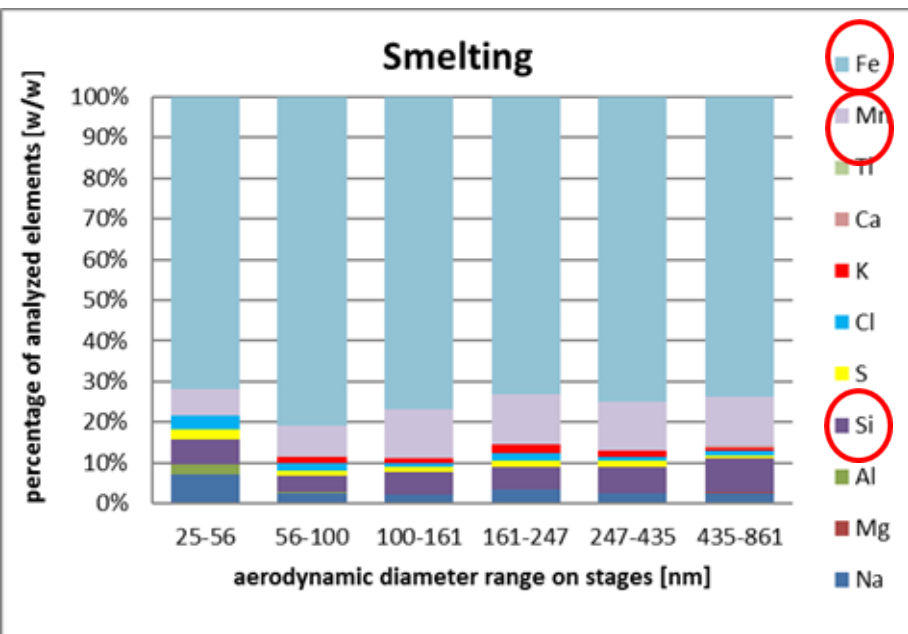
Aerodynamický průměr [nm]

S355J2 ocel ( hmotnostní %): Fe, 97.39; C, 0.24; Mn, 1.70; Si, 0.6; P, 0.035; S, 0.035).

# Chemické složení

- relativní (%) a absolutní množství ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

## SLÉVÁNÍ



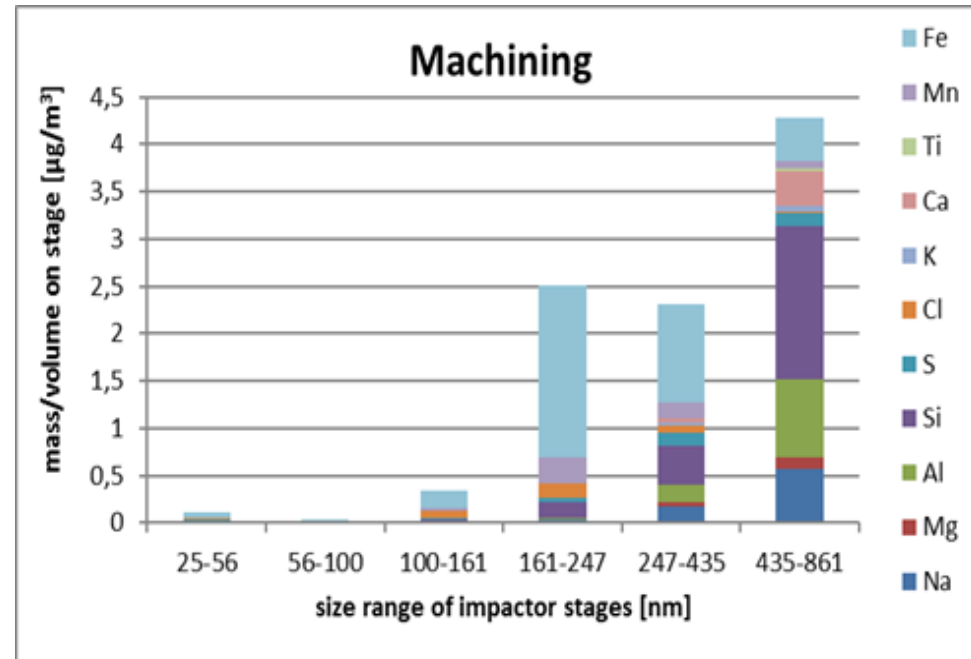
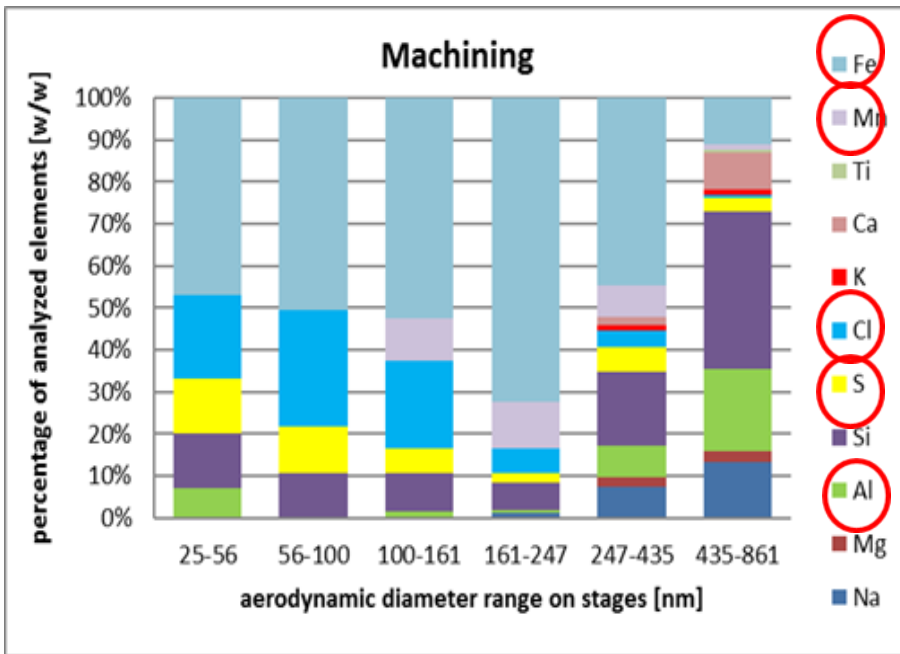
Aerodynamický průměr [nm]

$\text{AlSi}_9\text{Cu}_3$  slitina (hmotnostní %: Al, 83.50; Si, 10.0; Fe, 0.8; Cu, 3.0; Mn, 0.55; Mg, 0.25; Cr, 0.15; Ni, 0.55; Zn, 1.2) s modifikačními solemi (NaCl, KCl, NaF) byla tavena při  $760^\circ\text{C}$  v peci v pískové formě s bentonitovým plnivem

# Chemické složení

- relativní (%) a absolutní množství ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

## BROUŠENÍ



**NANO FRAKCE - NEJČASTĚJŠÍ ZASTOUPENÍ PRVKŮ:**

**Fe, Mn, Si, Al, S, Na, Cl, K**

5 nanokompozitních vzorků

2 s epoxidovou pryskyřicí – jeden s 1% nanoSiO<sub>2</sub> jako plniva, druhý s drcenými rýžovými slupkami – tj. 50 % celulóza, 30 % lignin a 20 % SiO<sub>2</sub>.

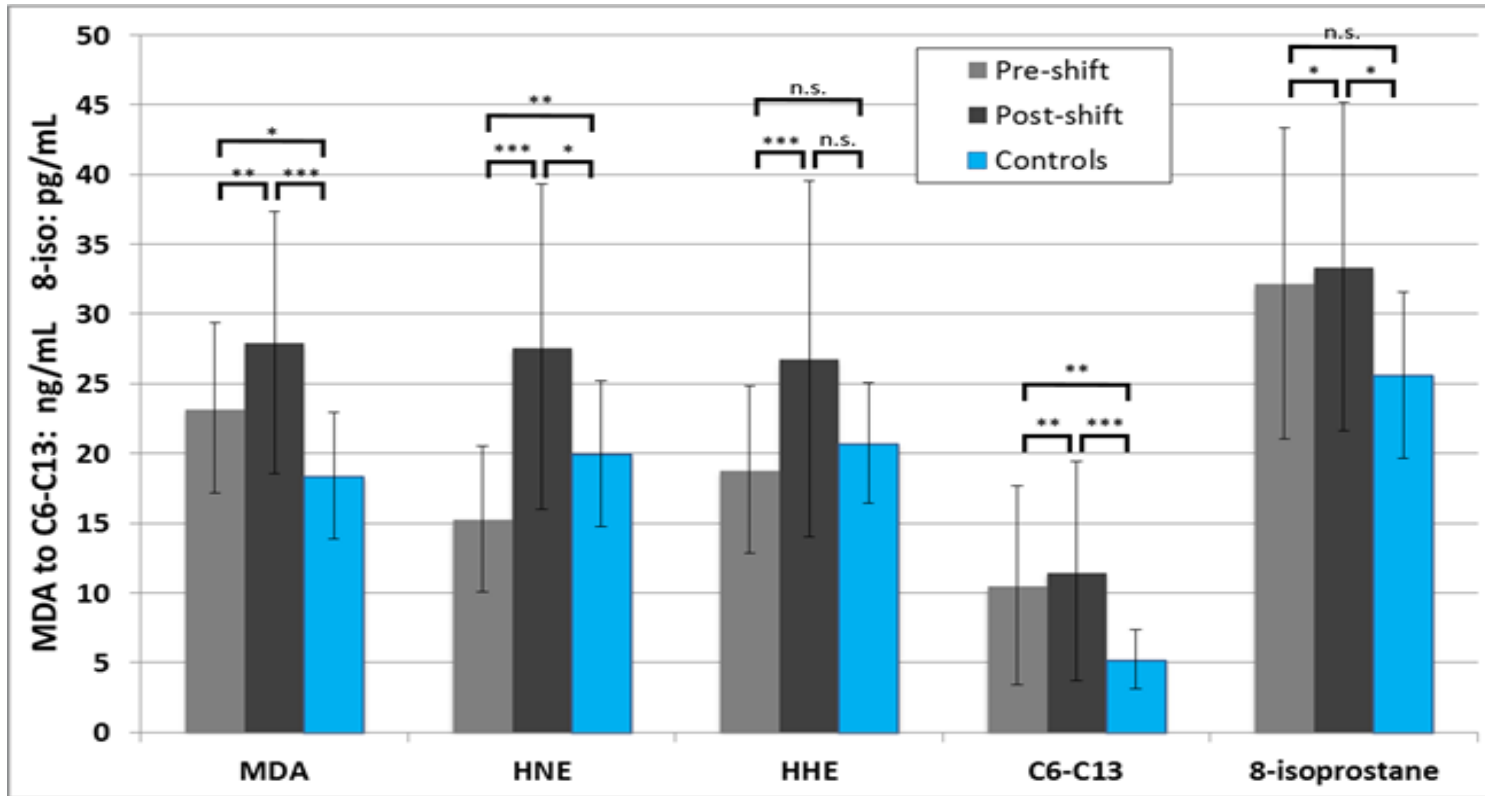
3 geopolymery, první - metakaolin s NaOH, druhý navíc s plnivem 40 % popílku, třetí 40 % čediče



# Markery oxidace lipidů

\*\*\* (p<0,001) \*\* (p<0,01) \* (p<0,05)

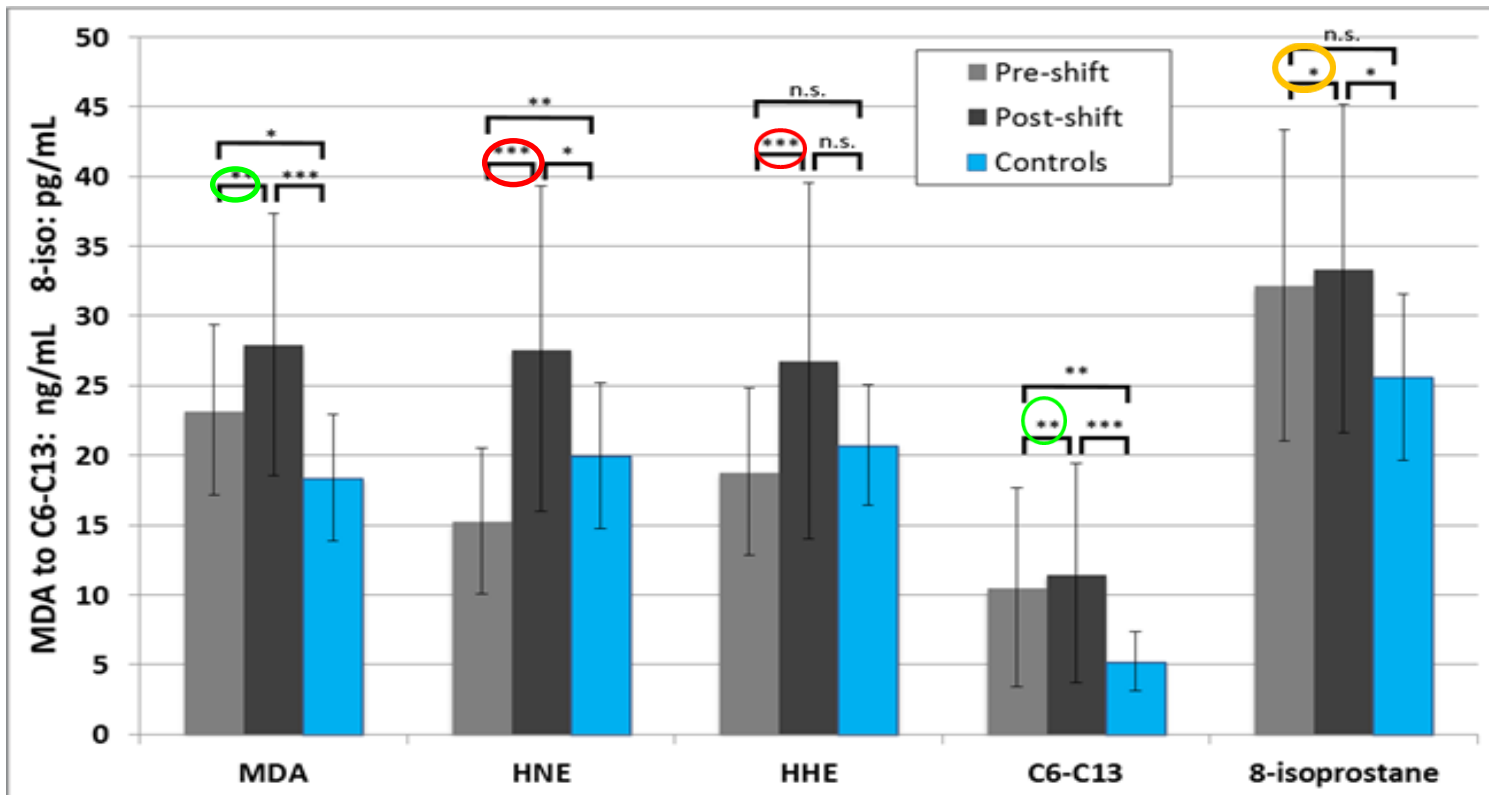
## Před směnou a Po směně vs. **kontroly**



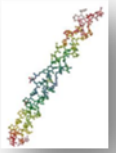
Pelcova D, Zdimal V, Schwarz J, Dvorackova S, Komarc M, Ondracek J, Kostejn M, Kacer P, Vlckova S, Fenclova Z, Popov A, Lischkova L, Zakharov S, Bello D. Markers of oxidative stress in the exhaled breath condensate of workers handling nanocomposites. *Nanomaterials*, submitted.

# Markery oxidace lipidů

## Před směnou a Po směně vs. **kontroly**

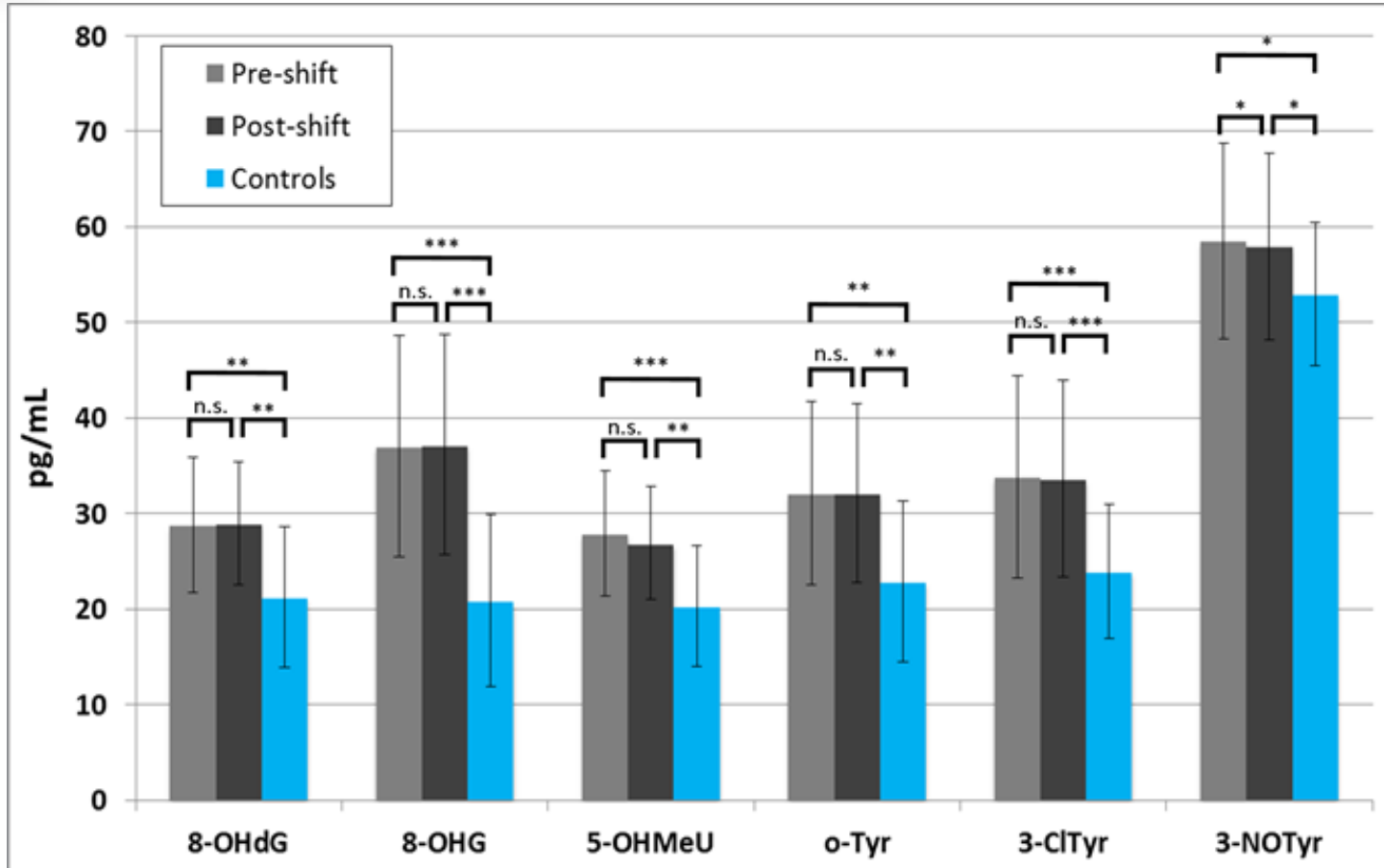


○\*\*\* (p<0,001) ○\*\* (p<0,01) ○\* (p<0,05)



# Markery oxidace nukleových kyselin a proteinů

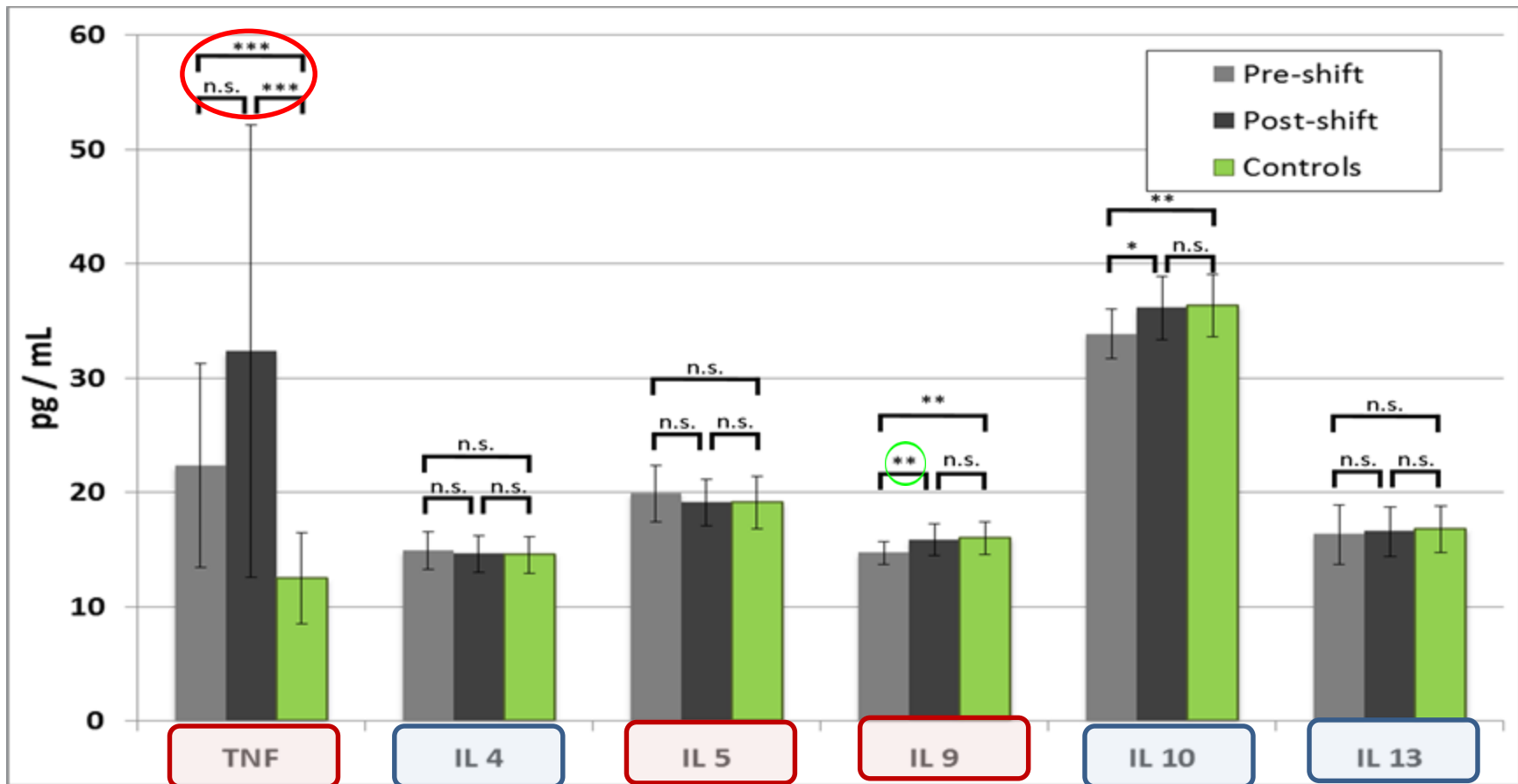
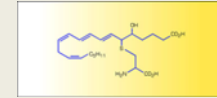
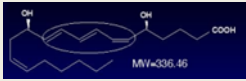
Ke zvýšení během směny nedošlo \*\*\* (p<0,001) \*\* (p<0,01) \* (p<0,05)



Pelcova D, Zdimal V, Schwarz J, Dvorackova S, Komarc M, Ondracek J, Kostejn M, Kacer P, Vlckova S, Fenclova Z, Popov A, Lischkova L, Zakharov S, Bello D. Markers of oxidative stress in the exhaled breath condensate of workers handling nanocomposites. *Nanomaterials*, submitted.

# Markery zánětu

## TNF nejvýznamnější








Prozánětlivé

\*\*\* (p<0.001) \*\* (p<0.01) \* (p<0.05)

Protizánětlivé

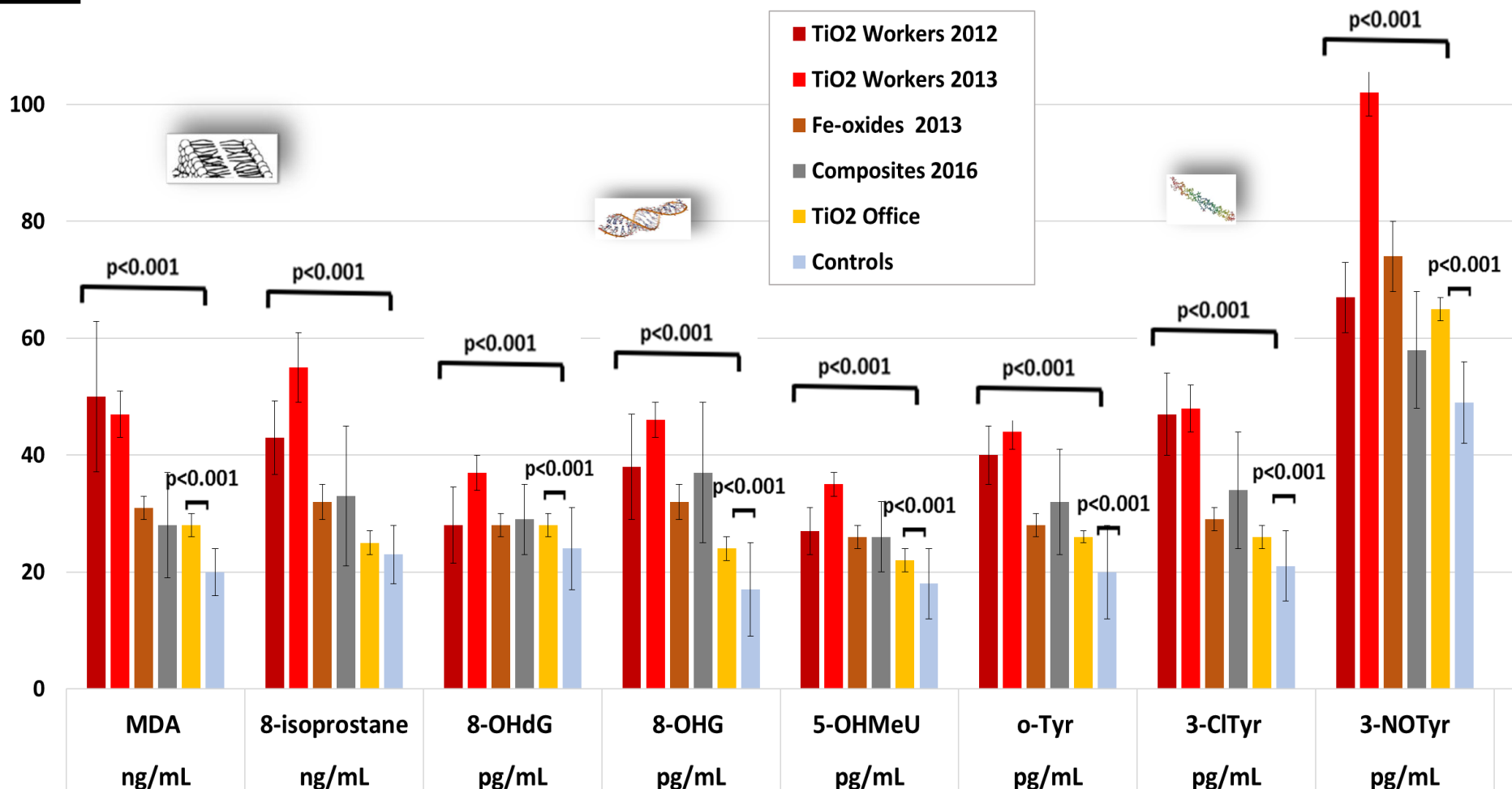
# Vyšetření 6 skupin osob

	Expozice	Počet osob	Expozice /den	Koncentrace mg/m <sup>3</sup>	Počet částic/cm <sup>3</sup>
TiO <sub>2</sub> 2012		20	3.5 h	0.65	19 800
TiO <sub>2</sub> 2013		14	3.5 h	0.40	23 200
Fe-oxidy 2013		14	3 h	0.083	66 800
Nanokompozity		20	2 h	0.12-1.84	48 000-540 000
TiO <sub>2</sub> 2013 úředníci		22	14 min	0.90	23 200
Kontrolní osoby		66	0	neměřeno	neměřeno





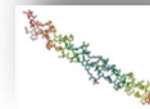
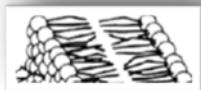
# Vyšetření 6 skupin osob - výsledky markerů OXIDAČNÍHO STRESU



# Mnohočetná regresní analýza

*klíčová je expozice v práci*

## 15 markerů před směnou – chronický efekt



	MDA	HNE	ALD6-12	OHdG	OHG	5-OHMeU	o-Tyr	3-ClTyr	3-NOTyr
<b>Práce</b>	0,005	0,029	0,000	0,002	0,000	0,001	0,003	0,000	0,043
<b>Věk</b>	0,005	0,375	0,360	0,404	0,384	0,082	0,171	0,015	0,786
<b>Pohlaví</b>	0,740	0,151	0,652	0,174	0,612	0,406	0,126	0,277	0,196
<b>Alkohol</b>	0,596	0,267	0,313	0,371	0,507	0,187	0,331	0,566	0,645
<b>BMI</b>	0,557	0,114	0,052	0,295	0,467	0,974	0,797	0,220	0,276



**Markery zánětu**

**p<0,001**

**p<0,01**

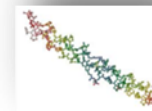
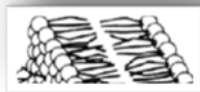
**p<0,05**

TNF	LTB4	LTD4	LTE4	LXB4	IL10
0,000	0,001	0,041	0,048	0,029	0,007
0,071	0,037	0,280	0,641	0,466	0,938
0,371	0,277	0,760	0,088	0,886	0,866
0,133	0,066	0,632	0,849	0,320	0,413
0,476	0,817	0,309	0,393	0,911	0,814

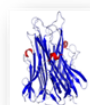
# Mnohočetná regresní analýza ve všech skupinách –

*primární je expozice v práci*

## 12 markerů po směně



	MDA	HNE	8-iso	ALD 6-12	8-OHdG	8-OHG	5-OHMeU	o-Tyr	3-CITyr
<b>Práce</b>	0,001	0,005	0,008	0,000	0,002	0,000	0,002	0,003	0,000
<b>Věk</b>	0,089	0,860	0,651	0,018	0,674	0,376	0,674	0,166	0,018
<b>Pohlaví</b>	0,458	0,126	0,936	0,294	0,442	0,651	0,442	0,128	0,294
<b>Alkohol</b>	0,838	0,745	0,531	0,574	0,745	0,524	0,745	0,315	0,574
<b>BMI</b>	0,905	0,111	0,336	0,222	0,671	0,491	0,671	0,742	0,222



## Markery zánětu

p<0,001

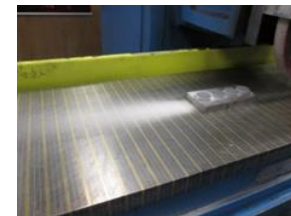
p<0,01

p<0,05

TNF	LTB4	LTE4
0,000	0,001	0,022
0,805	0,040	0,563
0,212	0,290	0,078
0,891	0,084	0,998
0,449	0,777	0,400



# DECHOVÉ OBTÍŽE + plicní funkce



**Chronická bronchitida častější:**

**4 (20 %) nanokompozity, 0 % kontrol**      **p=0,033\***

**Dušnost NYHA II:**

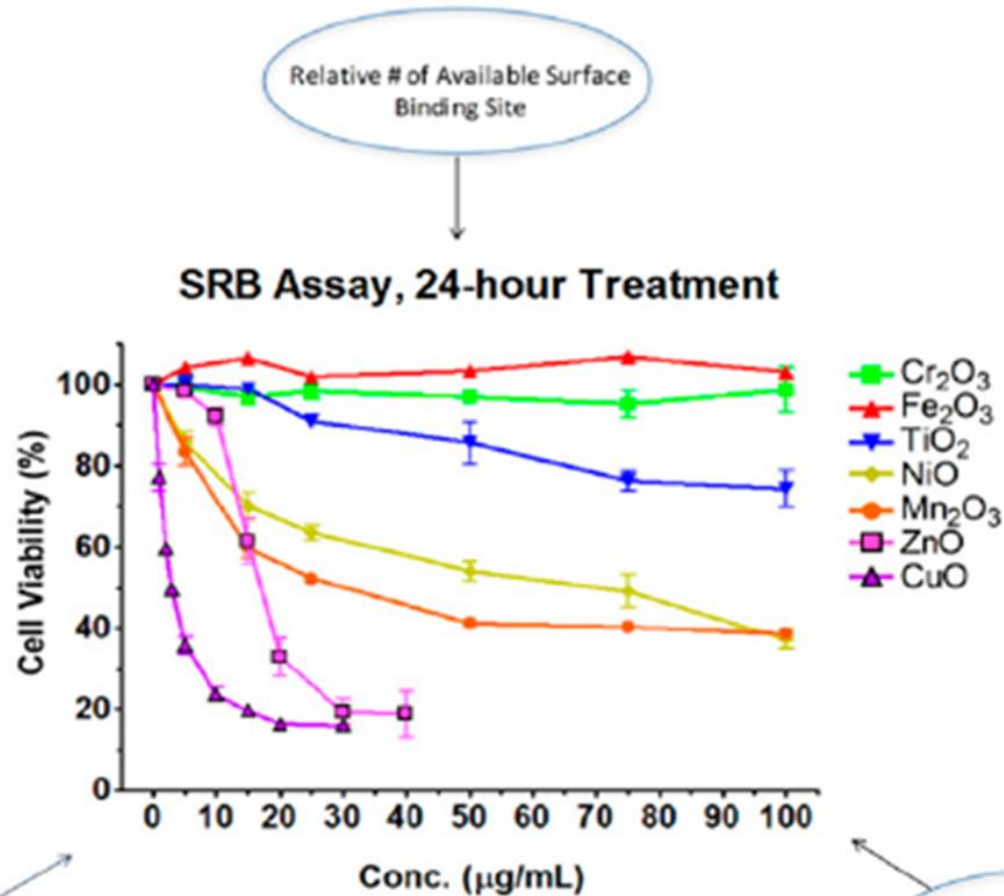
**3 (15 %) nanokompozity vs. 0 % kontrol**      **p=0,069**

**Plicní funkce – v normě – avšak pokles po směně p<0,05**

PLICNÍ FUNKCE	% FVC	% VCIN	% FEV1	FEV1/FVC	% PEF
Před směnou	94.7±13.3	92.2±13.0	102.2±13.5	0.89±0.06	110.2±14.3
Po směně	95.0±11.6	93.1±11.0	↓99.0±12.0*	↓0.86±0.06*	106.8±15.2
Kontroly	100.8±13.6	98.7±13.0	106.1±14.0	0.89±0.06	111.8±20.2

# Výsledky obdobné ve všech skupinách exponovaných osob

Málo rozpustné oxidy – přechodné prvky - **Fe, Cr, Ti, Mn, Ni, Cu, Zn**



Particle Surface Charge

Particle Metal Dissolution



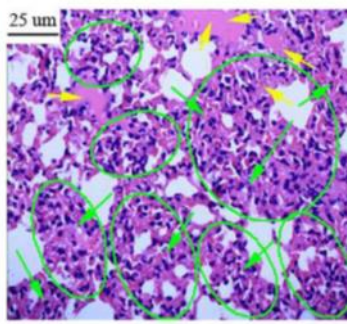
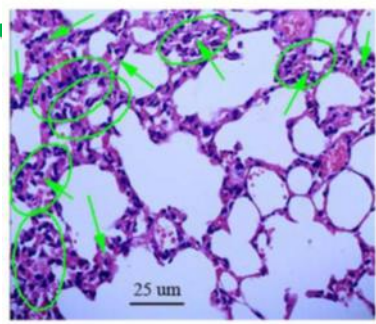
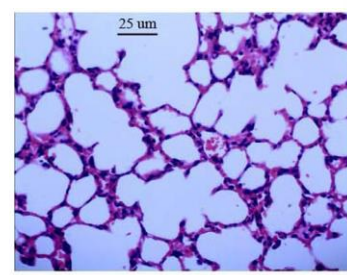
# Molecular Mechanisms of Nanosized Titanium Dioxide-Induced Pulmonary Injury in Mice

Bing Li<sup>1,3</sup>, Yuguan Ze<sup>1,3</sup>, Qingqing Sun<sup>1,3</sup>, Ting Zhang<sup>2,3,3</sup>, Xuezi Sang<sup>1</sup>, Yaling Cui<sup>1</sup>, Xiaochun Wang<sup>1</sup>, Suxin Gui<sup>1</sup>, Danlin Tan<sup>1</sup>, Min Zhu<sup>1</sup>, Xiaoyang Zhao<sup>1</sup>, Lei Sheng<sup>1</sup>, Ling Wang<sup>1</sup>, Fashui Hong<sup>1\*</sup>, Meng Tang<sup>2,3\*</sup>

Nosní aplikace suspenze nano-TiO<sub>2</sub> (6 nm) denně po 90 dní  
2,5-10 mg/kg hmotnosti *kontrola*

Apoptóza  
Změna exprese 847 genů

- zánětlivá infiltrace



2,5 mg/kg

5 mg/kg

**Table 3.** Oxidative stress in the mouse lung after nasal administration with nano-TiO<sub>2</sub> for 90 consecutive days.

Oxidative stress	TiO <sub>2</sub> NPs (mg/kg BW)			
	0	2.5	5	10
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (nmol/mg prot. min)	23±1.15a	30.27±1.51b	39.18±1.96c	50±2.50d
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (nmol/mg prot. min)	43±2.15a	61.22±3.06b	78.96±3.95c	110±5.50d
MDA (μmol/mg prot)	1.08±0.05a	1.59±0.08b	2.89±0.15c	5.15±0.26d
Carbonyl (μmol/mg prot)	0.54±0.03a	0.98±0.05b	1.85±0.09c	3.04±0.15d
8-OHdG (mg/g tissue)	0.42±0.02a	2.26±0.11b	4.25±0.21c	7.12±0.36d

Letters indicate significant differences between groups (p<0.05). Values represent means ± SE (N=5).

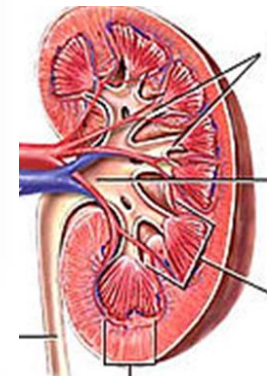
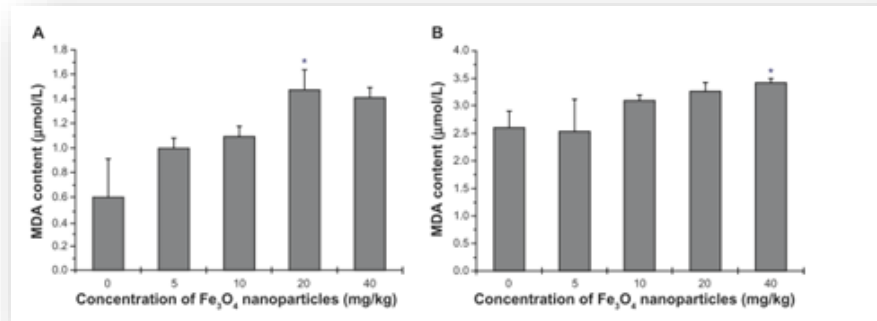
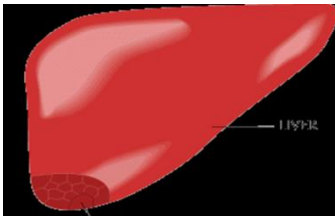
MDA -malondialdehyd, PC- protein karbonyl, 8-OHdG 8-hydroxy-2-deoxyguanosin

# Intraperitoneal injection of magnetic $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -nanoparticle induces hepatic and renal tissue injury via oxidative stress in mice

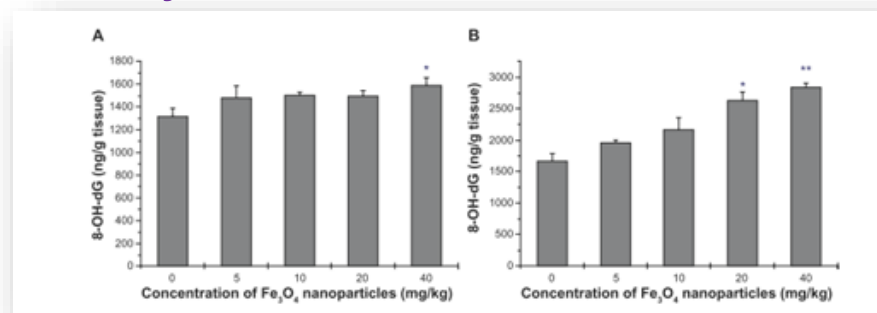


Ma et al. 2012

- Nano  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  i.p. 7 dní 5-40 mg/kg
- Zvýšení MDA ve tkáni jater a ledvin

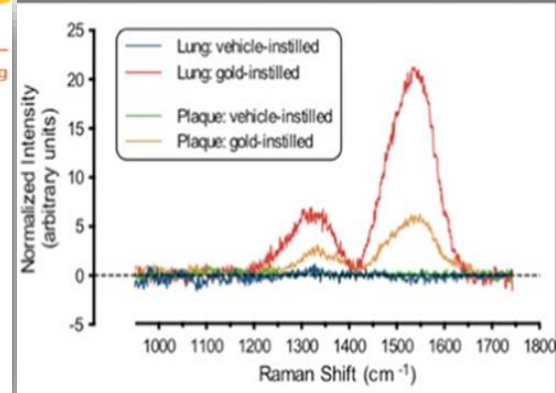


- Zvýšení 8-OHdG v játrech a ledvinách

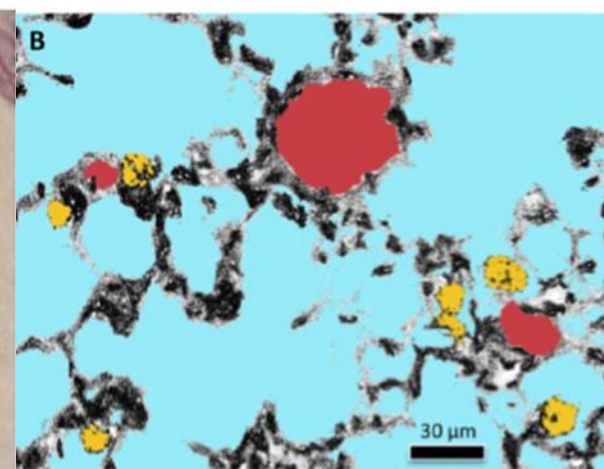
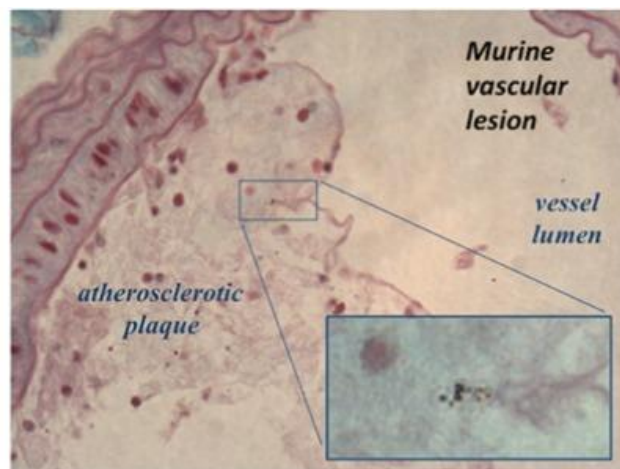
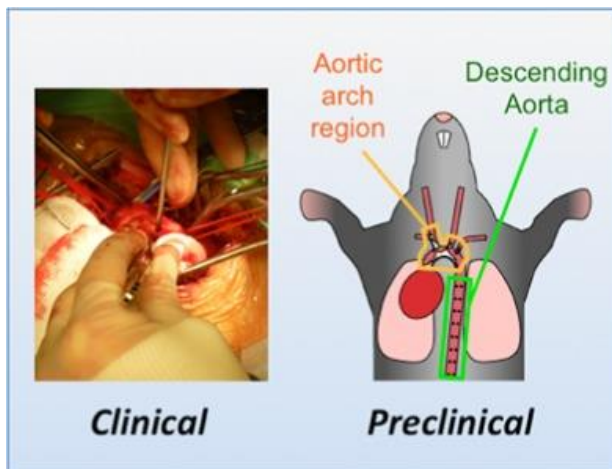


# Inhaled Nanoparticles Accumulate at Sites of Vascular Disease

Mark R. Miller,<sup>\*,†,∞,∇</sup> Jennifer B. Raftis,<sup>‡,∞,∇</sup> Jeremy P. Langrish,<sup>†</sup> Steven G. McLean,<sup>†</sup> Pawitrabhorn Samutrtai,<sup>§</sup> Shea P. Connell,<sup>†</sup> Simon Wilson,<sup>†</sup> Alex T. Vesey,<sup>†</sup> Paul H. B. Fokkens,<sup>||</sup> A. John F. Boere,<sup>||</sup> Petra Krystek,<sup>⊥</sup> Colin J. Campbell,<sup>§</sup> Patrick W. F. Hadoke,<sup>†</sup> Ken Donaldson,<sup>‡</sup> Flemming R. Cassee,<sup>||,#</sup> David E. Newby,<sup>‡</sup> Rodger Duffin,<sup>‡,∇</sup> and Nicholas L. Mills<sup>†,∇</sup>



- Myši 2-200 nm instilace do plic 2 x týdně po 5 týdnů,
- detekce **v krvi** do 30 nm, **v moči** do 5 nm, v alveolech, makrofázích, ..
- V athero placích myšího oblouku aorty (Apolipoprot. E-/-)

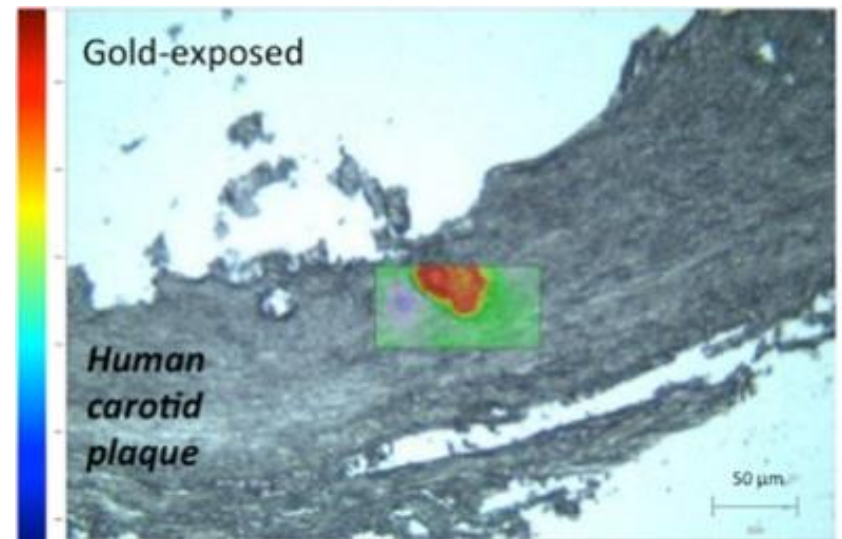
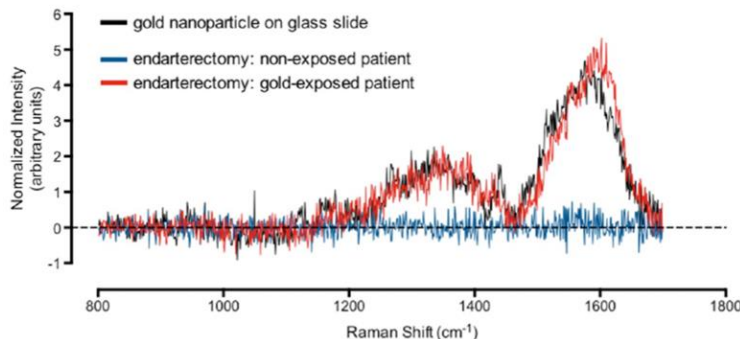
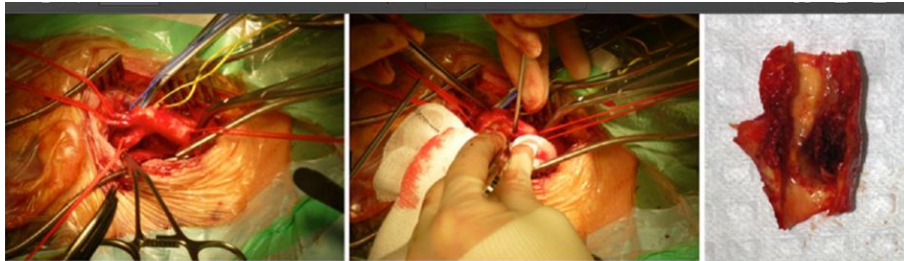


# Inhaled Nanoparticles Accumulate at Sites of Vascular Disease

Mark R. Miller,<sup>\*,†,∞,∇</sup> Jennifer B. Raftis,<sup>‡,∞,∇</sup> Jeremy P. Langrish,<sup>†</sup> Steven G. McLean,<sup>†</sup> Pawitrabhorn Samutrtai,<sup>§</sup> Shea P. Connell,<sup>†</sup> Simon Wilson,<sup>†</sup> Alex T. Vesey,<sup>†</sup> Paul H. B. Fokkens,<sup>||</sup> A. John F. Boere,<sup>||</sup> Petra Krystek,<sup>⊥</sup> Colin J. Campbell,<sup>§</sup> Patrick W. F. Hadoke,<sup>†</sup> Ken Donaldson,<sup>‡</sup> Flemming R. Cassee,<sup>||,#</sup> David E. Newby,<sup>†</sup> Rodger Duffin,<sup>‡,∇</sup> and Nicholas L. Mills<sup>†,∇</sup>

Miller 2017

14 dobrovolníků inhalovalo nano Au (4 nebo 34 nm) po dobu 2 hod, v krvi za 15 min- 24 hod, až 3 měsíce. V moči byly jen 4 nm částice. 3 z 12 pacientů inhalovalo nanoAu 4 hod den před endarterektomií. Au bylo pak přítomno v odstraněných ateroplacích karotid



## Assessing the first wave of epidemiological studies of nanomaterial workers.

Liou SH<sup>1</sup>, Tsai CS<sup>2</sup>, Pelclova D<sup>3</sup>, Schubauer-Berigan MK<sup>4</sup>, Schulte PA<sup>4</sup>.

### Author information

<sup>1</sup>National Institute of Environmental Health Sciences, National Health Research Institutes, 35 Keyan Road, Zhunan, Miaoli County 35053, Taiwan, ROC.

<sup>2</sup>Department of Environmental and Radiological Health Science, Colorado State University, Fort Collins, CO, USA.

<sup>3</sup>Department of Occupational Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic.

<sup>4</sup>National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH, USA.



- **Nanočástice obsahuje 1 682 spotřebních výrobků**
- Jejich cena na trhu na trhu dosáhne  $10^{12}$  (trillionů) USD
- 6 PUBLIKOVANÝCH STUDIÍ do r. 2015
- JEDNOTLIVÉ LÁTKY:  $\text{TiO}_2$  (ČR, Čína), uhlíkové nanotrubičky (Rusko, Korea, Holandsko), oxidy železa (ČR),  $\text{CaCO}_3$  (Čína), nano-saze v tonerech, (Japonsko), nanoAg (Korea)
- **International Agency for Research on Cancer (IARC) klasifikoval  $\text{TiO}_2$  jako „possibly carcinogenic to humans“ (skupina 2B)**
- **NIOSH snížil limit nano $\text{TiO}_2$  na  $0,3 \text{ mg/m}^3$**

# Zhao, 2018: Cardiopulmonary effects induced by occupational exposure to TiO<sub>2</sub> nanoparticles



- TiO<sub>2</sub> výroba v Číně
- TiO<sub>2</sub> baliči 3,17 mg/m<sup>3</sup>, 39% nano TiO<sub>2</sub>
- **Markery cévní toxicity a kardiotoxicity** (buněčné adhezní molekuly cévní a intercelulární - VCAM, ICAM)
- **Krev** MDA, TNF, IL-10, ....
- **RTG** – 43 % osob patologicky zvýšená kresba u exponovaných
- **Porucha plicních funkcí** (p < 0.05)
- ***Všechny markery asociované s expozicí TiO<sub>2</sub>***





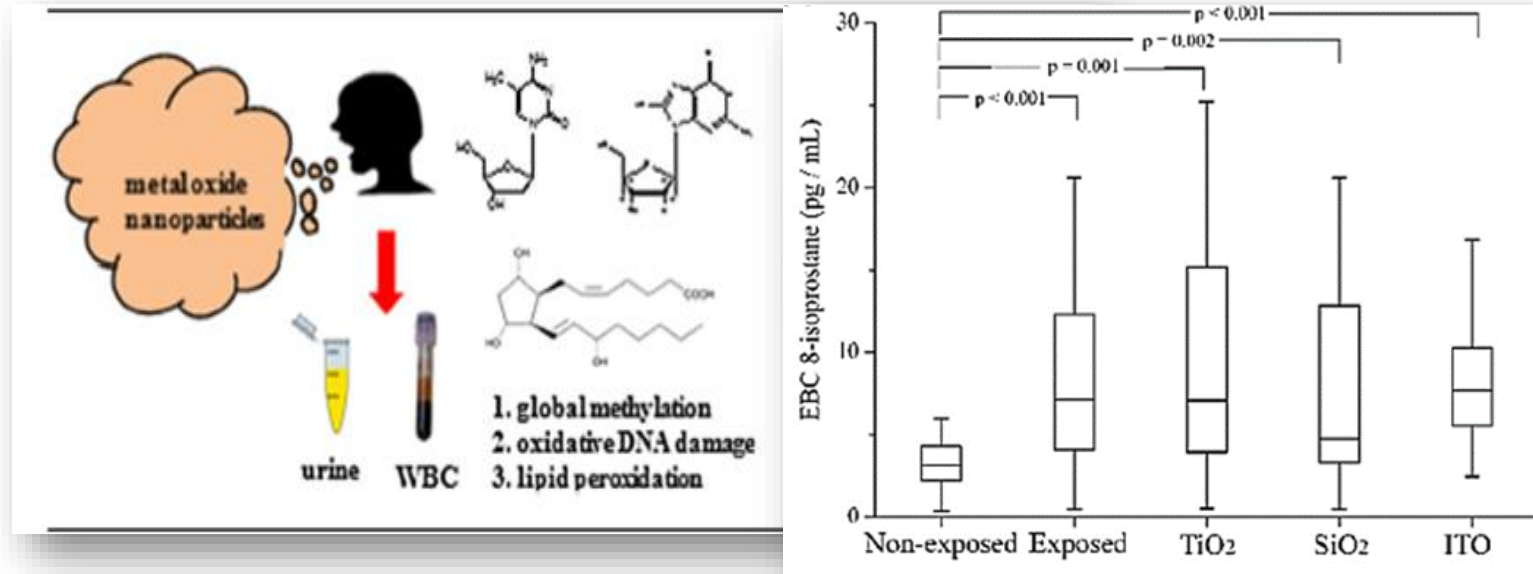
# Immunological effects among workers who handle engineered nanoparticles

Deborah Catherine Glass,<sup>1</sup> Mahjabeen Mazhar,<sup>1</sup> Sue Xiang,<sup>2</sup> Pamela Dean,<sup>1</sup> Pamela Simpson,<sup>3</sup> Brian Priestly,<sup>1</sup> Magdalena Plebanski,<sup>2</sup> Michael Abramson,<sup>1</sup> Malcolm Ross Sim,<sup>1</sup> Martine Dennekamp<sup>1</sup>

- Výzkumní zaměstnanci (34 osob) zpracovávající nanočástice a bez expozice (55 osob) – srovnání – časové rozpětí 47-326 min/směnu
- Pondělí před směnou, po směně, za 5 dní
- Osobní odběrové sety
- **Zvýšení TNF v séru** po směně
- Beze změny plicních funkcí
- Beze změny FeNO a CRP



# Liou 2016, 2017 Workers exposed to metal oxide nano particles – oxidative stress and DNA methylation

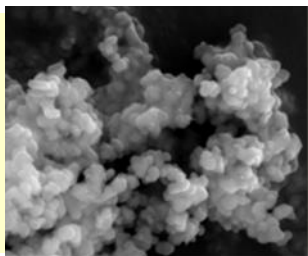


8-OHdG v plazmě, moči, ↑8-isoprostan v KVV

130 zaměstnanců expozice 26xTiO<sub>2</sub>, – 31x SiO<sub>2</sub>, 30x Indium Tin Oxide (ITO, cínem dopovaný oxid inditý, průhledný vodivý oxid pro výrobu displejů, svítivých diod a fotovoltaiky.

43 kontrol

Expozice může vést k poškození DNA, peroxidaci lipidů a hypomethylaci – aktivace onkogenů a nestabilita genomu – souvislost s tvorbou nádorů (?),....



# ZÁVĚRY



- **STUDIÍ U PRACOVNÍKŮ POZVOLNA PŘIBÝVÁ**
- Výsledky podporují hypotézu oxidačního stresu a upozorňují na poškození plic na molekulární úrovni
- Markery byly zvýšeny i při koncentracích pod úrovní povolených limitů pro expozici inertním materiálům - zaměstnanci nemají povinnost nosit respirátory
- Spirometrie prokazuje změny po směně/ po letech expozice
- FeNO není dostatečně citlivé ani specifické – vliv kouření
- **Nenacházíme v literatuře publikace prokazující “no effect”**

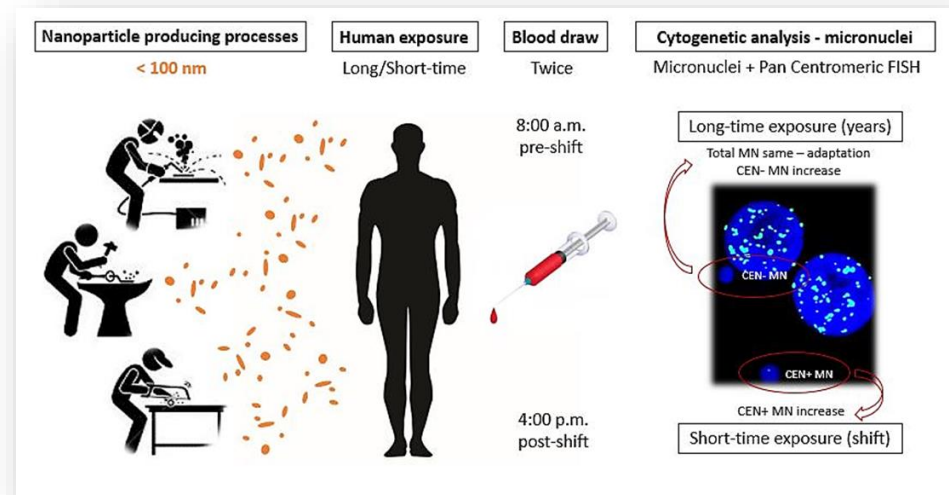


# Další vyšetření – nový grant GAČR 18-02079S 2018-2020

## GENETICKÉ VYŠETŘENÍ (ÚEM ČAV, VFN, ÚCHP AV, IKEM)

RNDr. Rössnerová, PhD.

- (vzorky 2015 - 2020)
- DNA methylace
- vyšetření mikrojadер v periferních lymfocytech
- Comet Assay

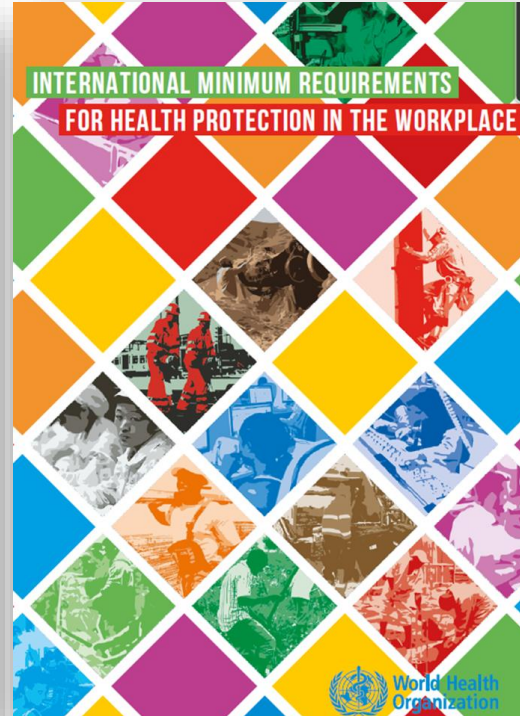
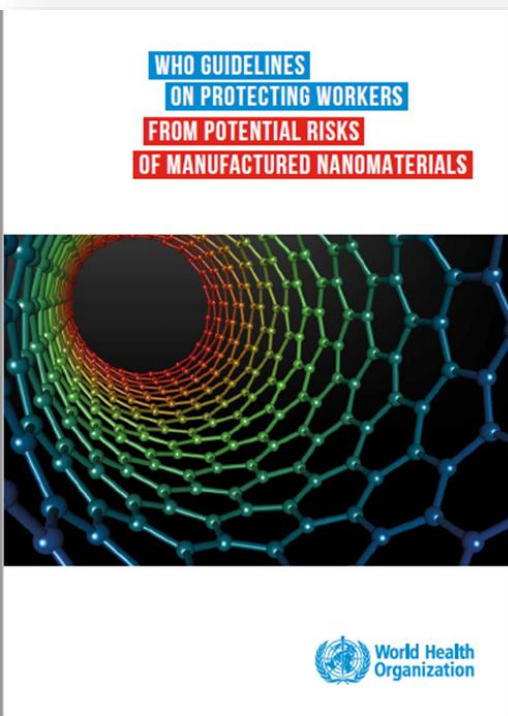


RNDr. Hubáček, DrSc. změny v koncentracích **cirkulující volné jaderné DNA**

- **a volné mitochondriální DNA (mtDNA)** jako porucha integrity nukleových kyselin

# WHO 2017

# EC 2018



Spray products .....studies performed by Pelclova et al. (2015, 2016a, 2016b, 2016c, and 2017)....

previous Opinion (SCCS/1516/13-revision of 22 April 2014) cannot be accepted as an argument for the absence of harmful effects after inhalation exposure. This is because the SCCS Opinion in question only addressed safety of the nano-forms of TiO<sub>2</sub> intended for dermal applications and had specifically excluded spray products. In fact, the Opinion had expressed concerns over the safety of TiO<sub>2</sub> nanomaterial applications in spray products that could lead to exposure of the consumer's lungs to TiO<sub>2</sub> nanoparticles via inhalation.

# Děkuji všem kolegům

*Charles University in Prague, Department of Occupational Medicine,  
and General University Hospital Prague, Czech Republic,  
Technical University in Liberec, Faculty of Mechanical Engineering, Department of  
Machining and Assembly, Department of Material Science  
Institute of Chemical Process Fundamentals of the CAS, v.v.i., Prague  
Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of the CAS, v.v.i., Prague*

*Ministry of Health Project 43/17/RPZP, PROGRES Q25/1LF/ and Q26/1LF*