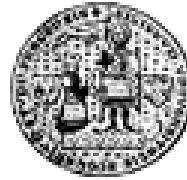


Účinky nanočástic na lidské zdraví

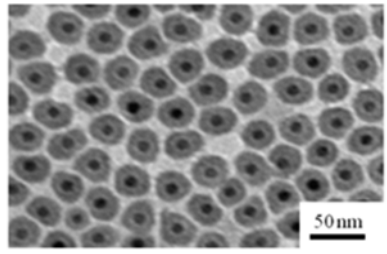


Prof. MUDr. Daniela Pelclová, CSc., FEAPCCT

daniela@pelclova.cz

Klinika pracovního lékařství VFN a 1. LF UK

Praha

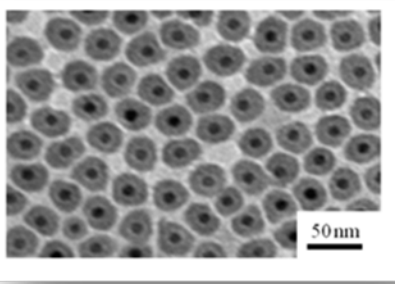


Nanočástice



- Exponenciálně stoupá počet aplikací průmyslově vyráběných nanočástic
- Stoupá počet výzkumníků i operátorů výroby z vývoje i produkce nanomateriálů
- Minimum studií u pracujících **po vdechování**
- Experimentální studie – **oxidační stres, zánět, fibróza plic, kardiovaskulární nemoci, rakovina**
- **Existují účinky na člověka? Lze je monitorovat?**

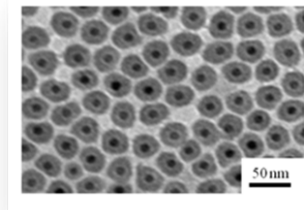
NANOČÁSTICE - STUDIE



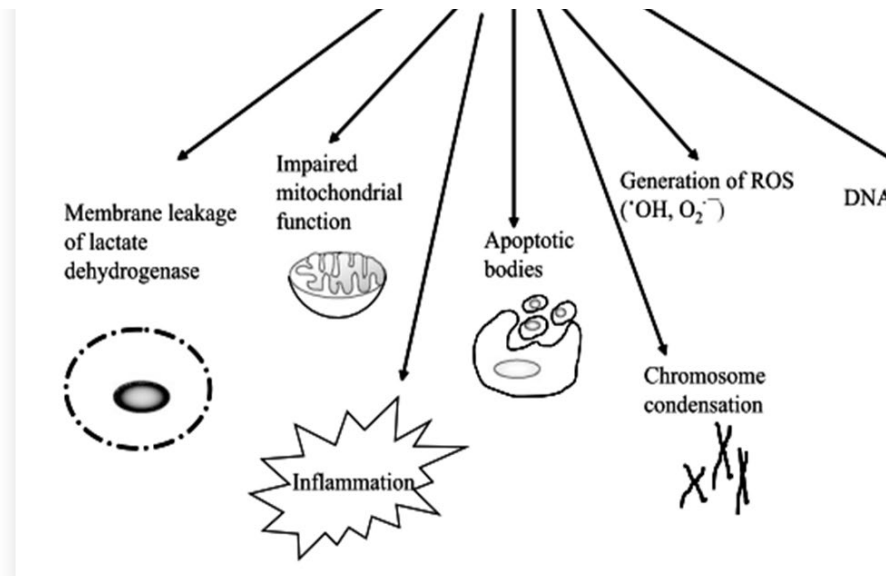
- Výsledky vyšetřování exponovaných osob
- 1 - Dělníci z výroby titanové běloby 2012, 2013
- 2 - Úředníci ze stejného podniku 2013
- 3 - Dělníci z výroby pigmentů s Fe oxidy 2013
- 4 - Výzkumníci s nanokompozitními materiály 2015-2020



NANOČÁSTICE (Huang 2017)

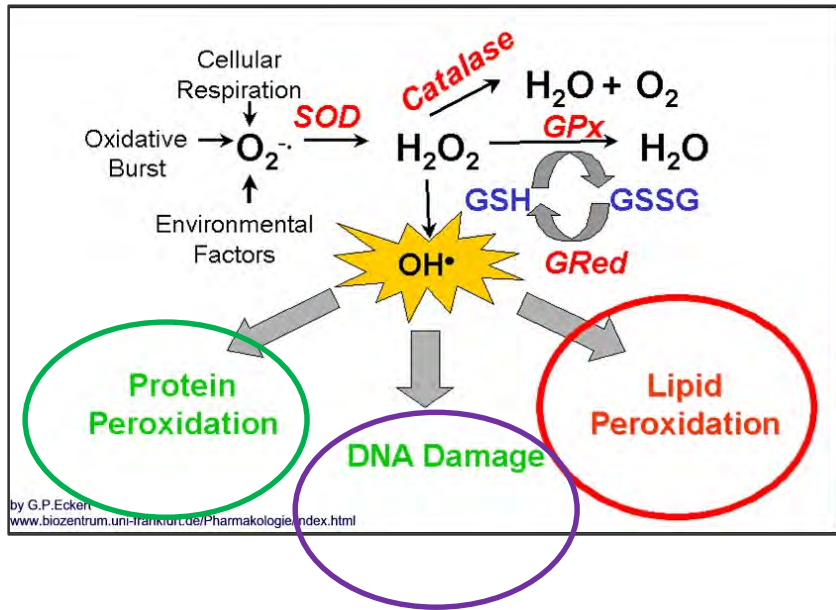


- Unikátní fyzikálně-chemické vlastnosti
- Vyšší reaktivita a cytotoxicita **při vyšším pozitivním povrchovém náboji** – vyšší absorpce, vyšší interakce s negativně nabitými glykosaminoglykany v membráně, s DNA
- Tvar je důležitý - při stejném složení – tyčinky jsou agresivnější
- Velký poměr **povrchu** 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

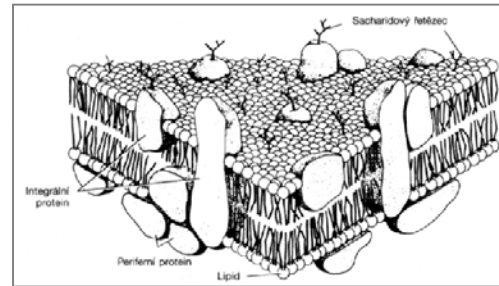


OXIDACE

bílkovin, jaderných kyselin a tuků



Oxidace tuků buněčných membrán
(lipidová dvojvrstva)



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

Runa 2017: TiO₂ 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

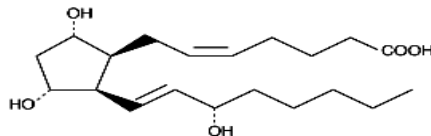
KYSELINA ARACHIDONOVÁ



přímá oxidace – ROS

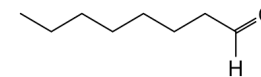
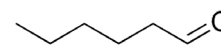
přímá oxidace - ROS

IZOPROSTANY (8-isoprostan)

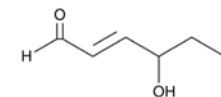


ALDEHYDY

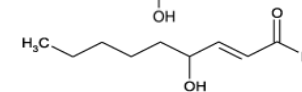
n-hexanal (C6), n-heptanal (C7), C8,..C12



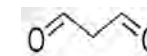
4-hydroxy-trans-2-hexenal (HHE)



4- hydroxy-trans-nonenal (HNE)



malondialdehyd (MDA)



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

MARKERY OXIDAČNÍHO STRESU

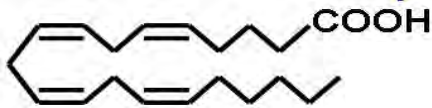
Oxidace membránových lipidů POMOCÍ ENZYMŮ



mastné kyseliny buněčných membrán

KYSELINA ARACHIDONOVÁ

přímá oxidace kyslíkovými radikály

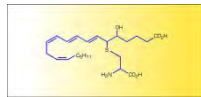
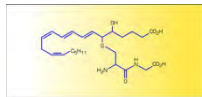
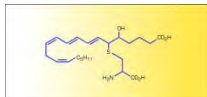
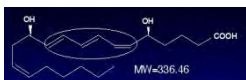


lipoxygenáza

leukotrieny – MARKERY ZÁNĚTU

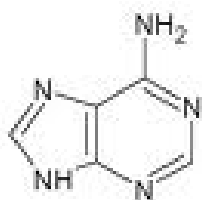
LTB₄

cysteinylové - LTC₄, LTD₄, LTE₄

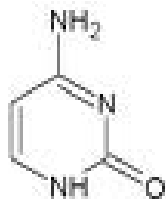


Markery oxidace nukleových kyselin

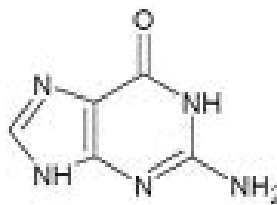
Stavební součásti nukleových kyselin a jejich oxidace



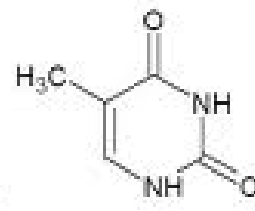
adenin - A



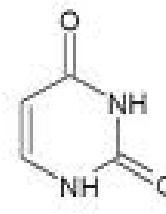
cytosin - C



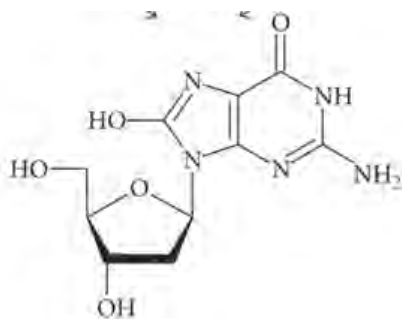
guanin- G



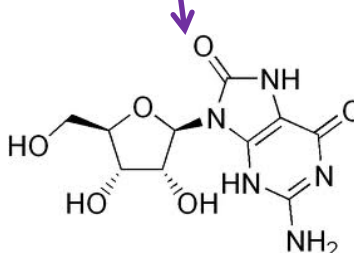
thymin - T



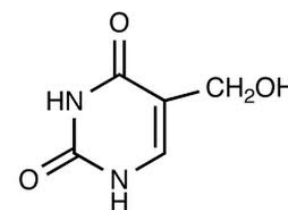
uracil - U



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



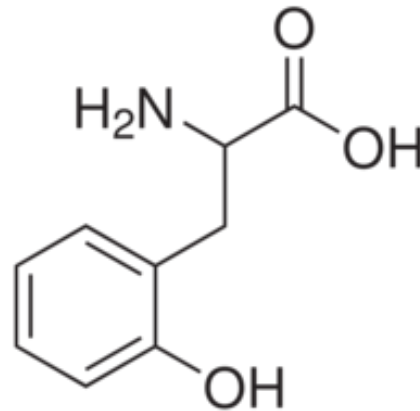
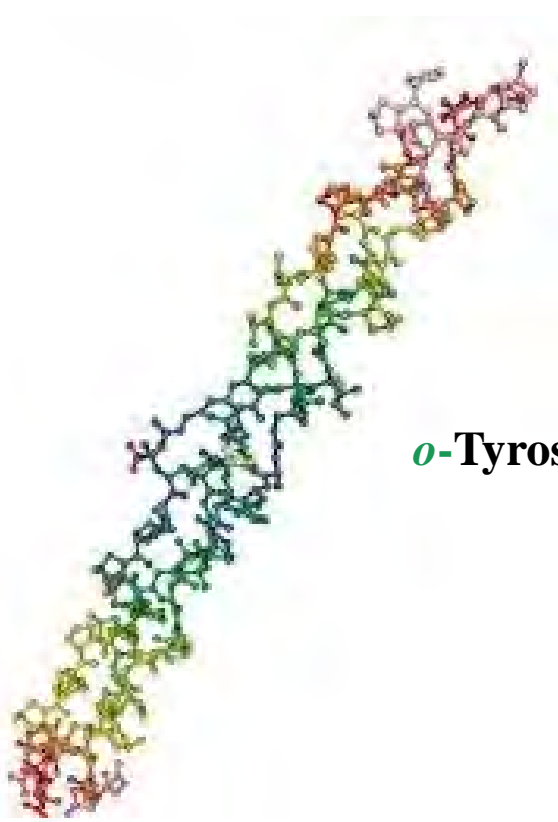
8-hydroxyguanosin
8-OHG (DNA)



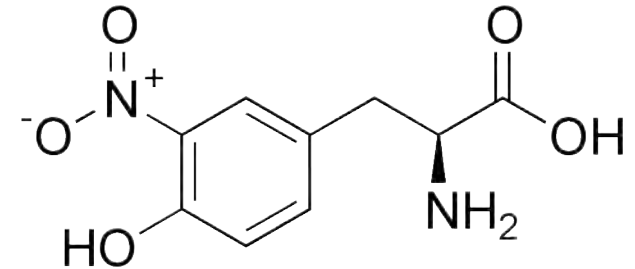
5-hydroxymethyluracil
5-OHMeU (RNA)

PROTEINY

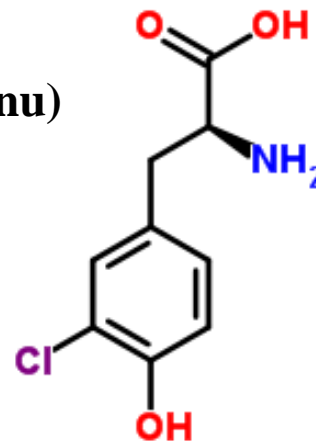
Produkty oxidace a přeměny bílkovin



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



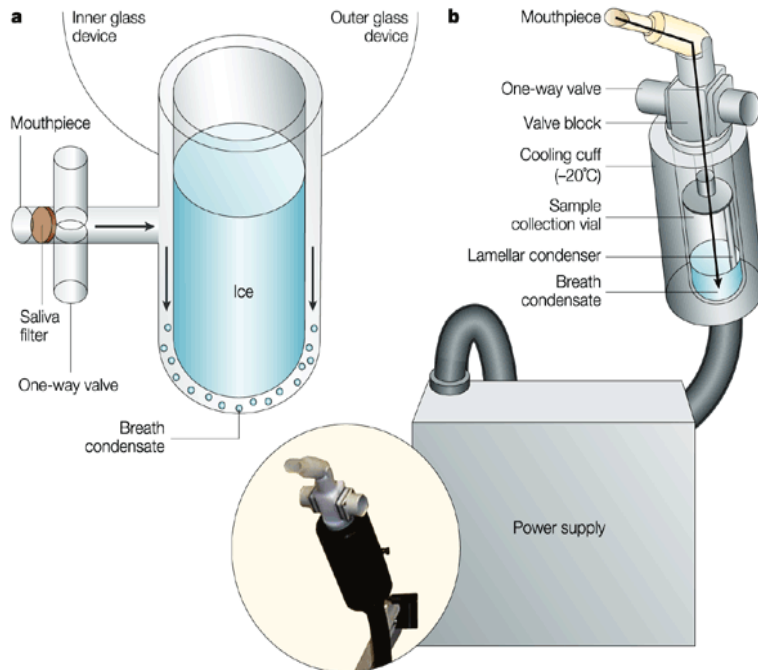
3-Nitrotyrosin
– nitrace tyrosinu



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

Odběr kondenzátu vydechovaného vzduchu (KVV)

Horváth et al. 2017



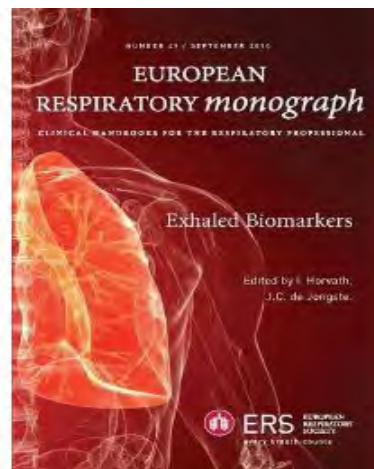
System pro neinvazivní sběr látek z dýchacího systému po 15 min klidového dýchání a po zkapalnění zchlazením na -10°C (Ecoscreen Jaeger).

KVV obsahuje:

- 1) z 99 % zkapalňenou vodní páru**
- 2) ve vodě rozpustné látky**
- 3) kapičky aerosolu tekutiny z dýchacích cest** uvolněné vířením vzduchu při kontrakci terminálních bronchiolů při výdechu

Metodika KVV

Horváth et al. 2017



VÝHODY

- + nebolí
- + 15 min dýchání neobtěžuje
- + lze opakovat
- + děti, pacienti s nemocemi plic
- + neovlivňuje se kouřením
- + metoda je přenosná
- + různé typy analýz vč. částic

NEVÝHODY

- Nízké koncentrace markerů
- nutno použít citlivé metody
- vyšší cena těchto analýz např. LC-ESI-MS/MS,

Analýza vzorků biologického materiálu LC/MS/MS (Syslová, Kačer et al. 2009, 2012, 2014)

- Identifikace biomolekul

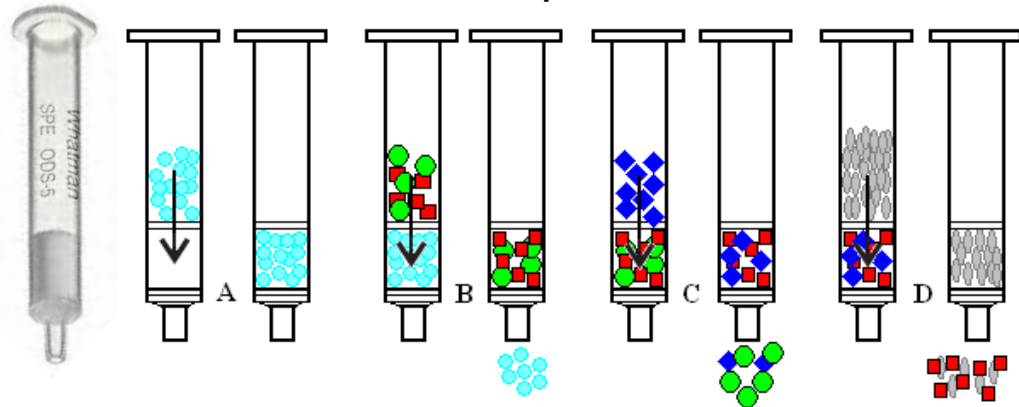


ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

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



Vyšetření pracovníků + kontrol



- Dotazník
- Pracovní anamnéza– roky expozice, denní expozice, OOPP, latence od poslední směny,
- Osobní anamnéza- nemoci, léky, životní styl - kouření, příjem alkoholu, pravidelná tělesná aktivita
- Dieta, poslední jídlo, poslední cigareta (kdy)
- Rodinná anamnéza
- Fyzikální vyšetření, teplota
- Krevní tlak
- Body mass index
- Spirometrie
- Lokální data z Monitoringu znečištění ovzduší (SO₂, CO, NO_x, PM_{2.5}, PM₁₀)





Měření markery v KVV, moči, krvi

LC-ESI-MS/MS analýza



- malondialdehyd (MDA)
- 4-hydroxy-trans-nonenal (HNE)
- 4-hydroxy-trans-hexenal (HHE)
- 8-isoProstaglandin F_{2α} (8-isoprostan)
- aldehydy C₆-C₁₂

TUKY

cytotoxické a genotoxické aldehydy

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

kovalentní addukty s NA a proteiny

NUKLEOVÉ KYSELINY (NA)

- o-tyrosin (o-Tyr)
- 3-chloro-tyrosin (3-ClTyr)
- nitrotyrosin (3-NO₂Tyr)

PROTEINY






- leukotrieny B₄, C₄, D₄, E₄ – markery zánětu
- interleukiny - IL 4, 5, 9, 10, 13, lipoxins (LXA, LXB),
- tumor necrosis factor (TNF)



Metoda FeNO – fractional exhaled nitric oxide – záněť, astma bronchiale

Exponované skupiny

* Francie (ANSES 2021) doporučuje 8hod limit (8h OEL) pro nanoTiO₂ 0,80 µg/m³

	Počet	Věk	Podíl nano částic	Expozice /den	Hmotnostní Koncentrace (medián) mg/m ³	Početní koncentrace (medián) /cm ³
TiO ₂ 2012* 	20	34±8	80%	7,5 hod	0,65	19 800
TiO ₂ 2013* 	14	34±5	80%	7,5 hod	0,40	23 200
TiO ₂ 2013 úředníci 	22	44±4	80%	15 min	0,40	23 200
Fe-oxides 2013 	14	43±8	80%	7,5 hod	0,083	66 800
Nanokompozity 2016-2018 	61	40±12	40-95%	3,0 hod	0,12-1,84	48 000-540 000
Kontroly 2012-2018	Srovnatelný věk, pohlaví			Bez expozice nanočásticím		

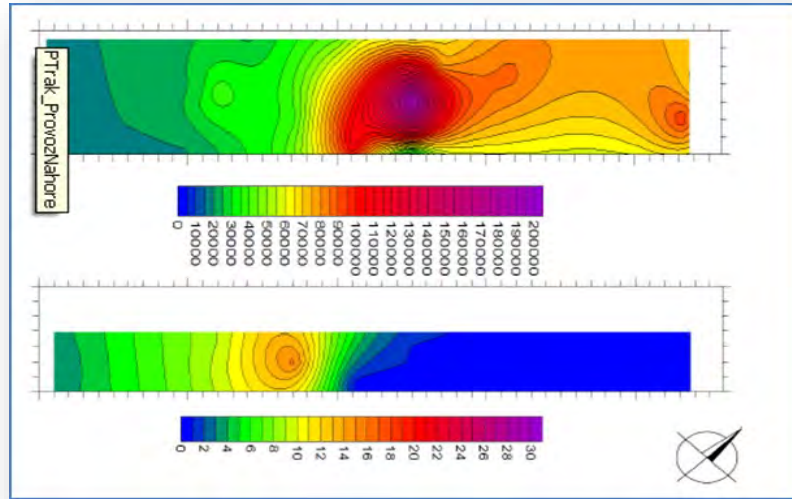
Skupina 1 DÉLNÍCI Z VYROBY TiO₂ pigmentu 2012 před směnou, po směně a 2013 jen po směně

80 % nano

Ilmenit - FeTiO₃

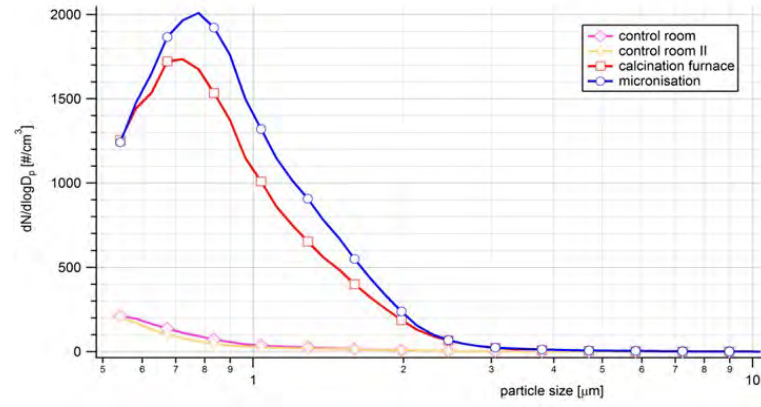
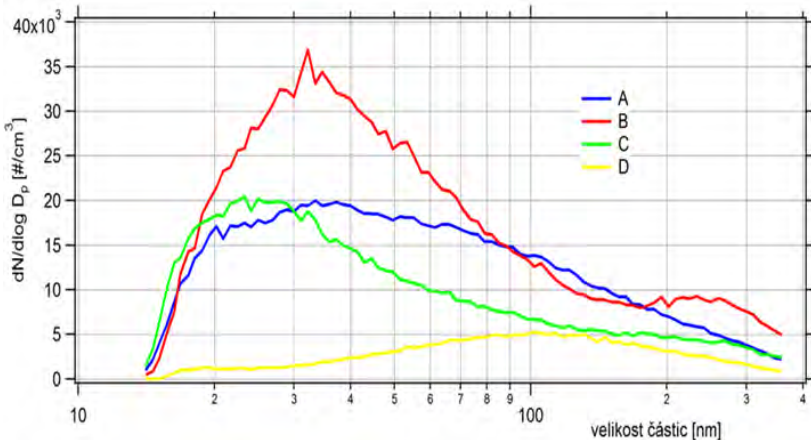
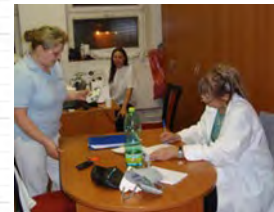


TiO₂



SMPS - scanning mobility
particle sizer -
particles from 15 to 350 nm

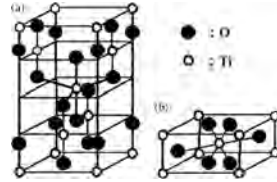
APS - aerodynamic particle sizer -
particles from 500 nm to 10 μm



Analýza sedimentovaného prachu TiO_2



a) anatas b) rutil



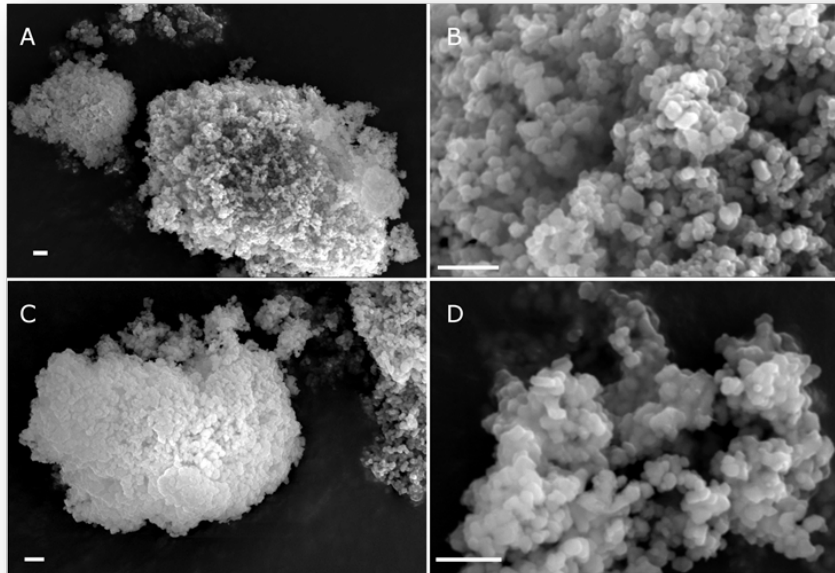
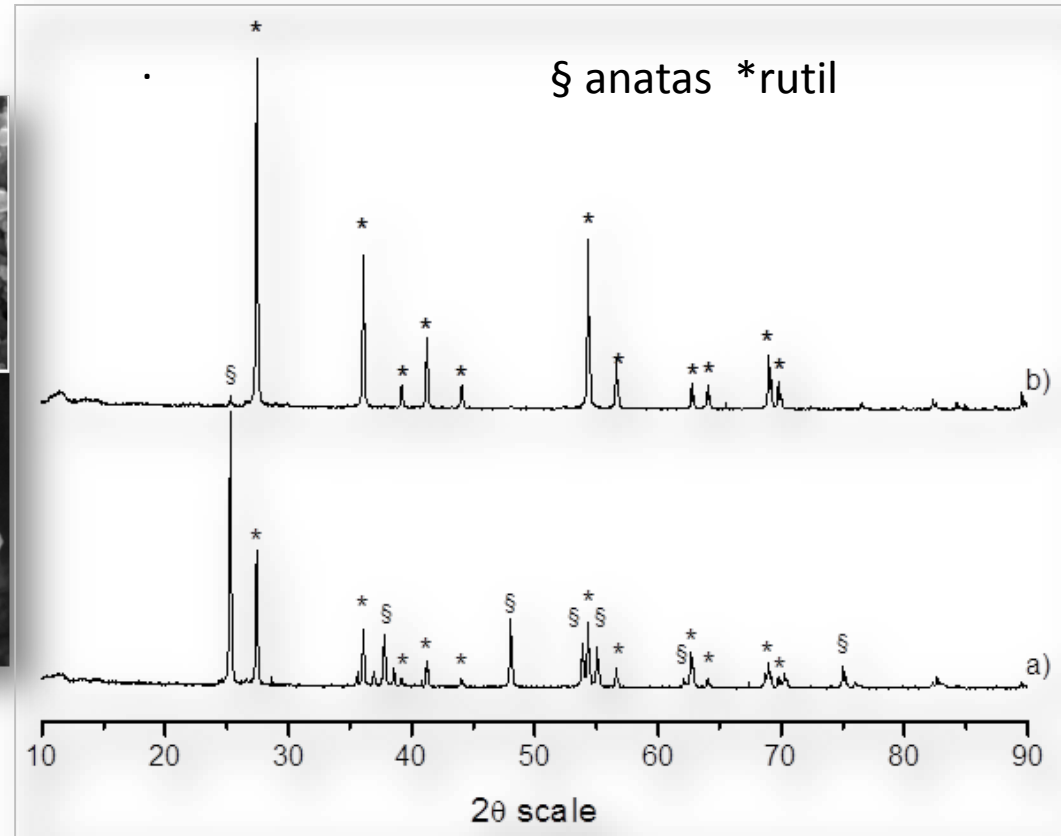
anatas – více reaktivní a více toxický

X-ray diffraction patterns

Kalcinační pec (anatas : rutil 2:1)

Mikronizační jednotka (rutil)

Scanning electron microscopy (SEM)
aglomerované/agregované částice



tyčinka = 1 μm

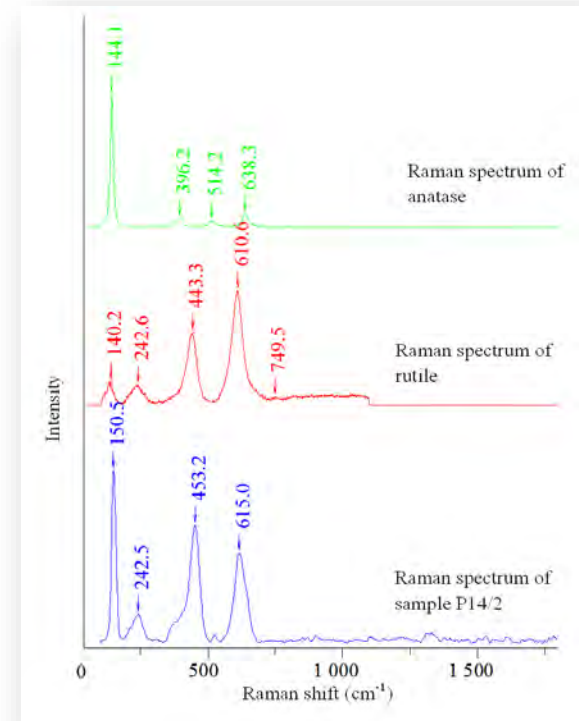
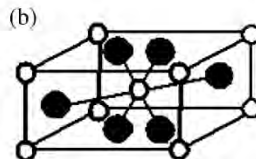
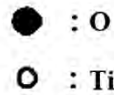
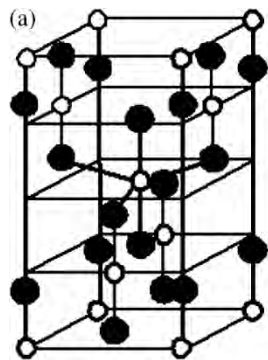
Ramanova mikrospektroskopie potvrdila TiO_2 v KVV (2012)

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



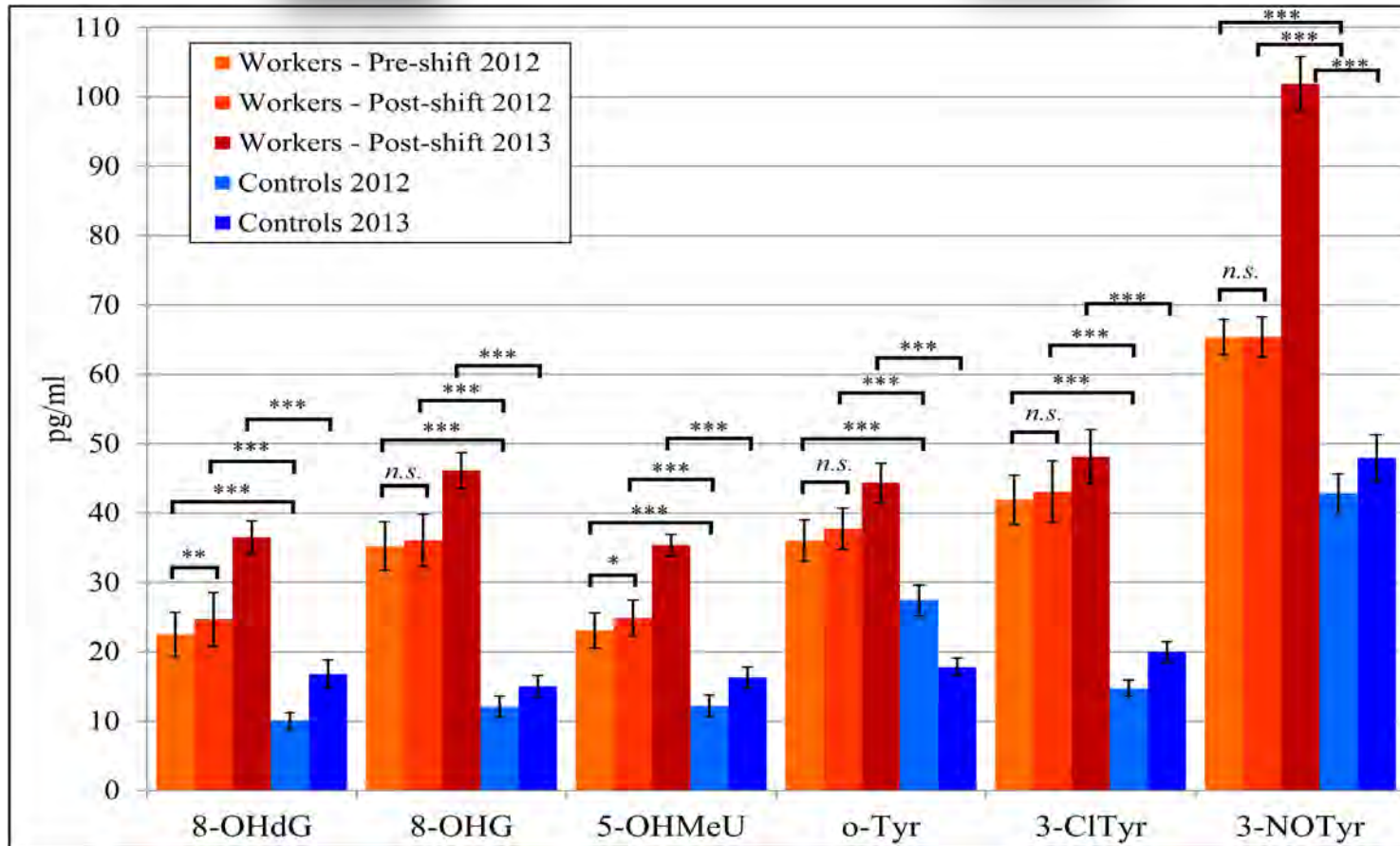
a) anatas

b) rutil



*Pelclova 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 TiO_2 particles: a cross-sectional study. **J Breath Research 2015***

TiO₂ dělníci a Kontroly



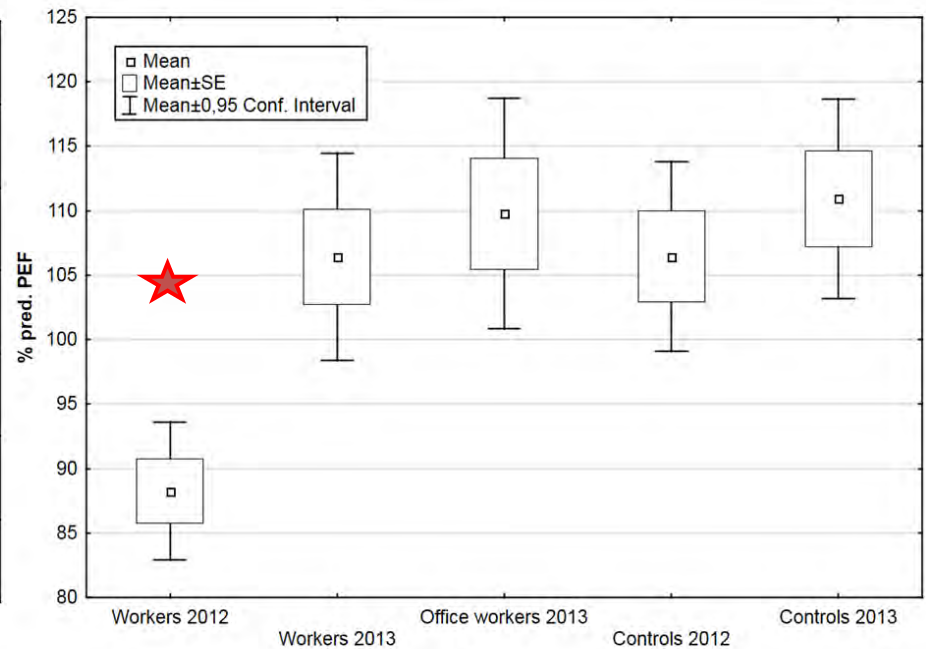
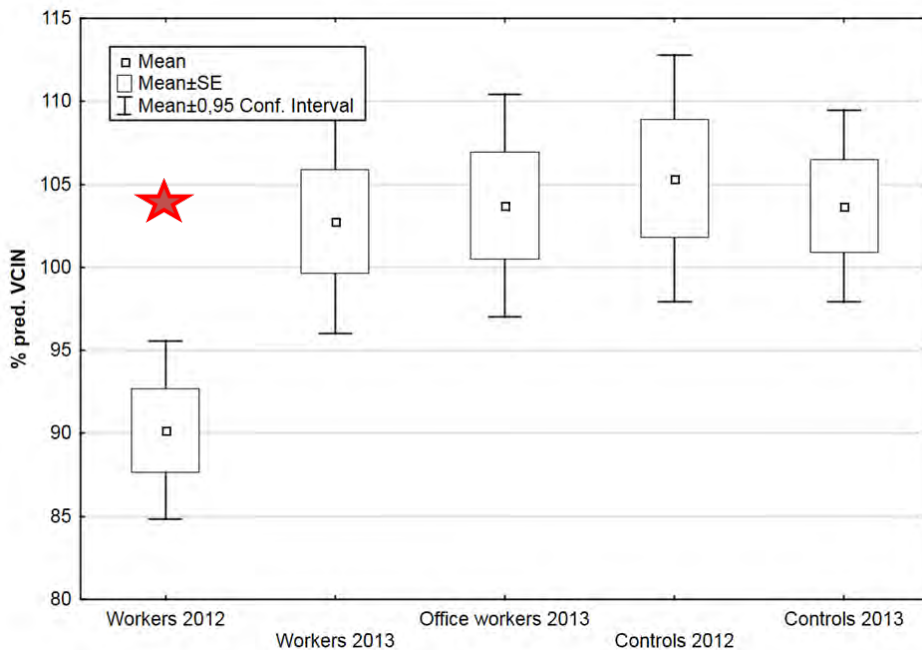
Pelcova D, Zdimal V, Fenclova Z, Vlckova S, Turci F, Corazzari I, Kacer P, Schwarz J, Zikova N, Makes O, Syslova K, Komarc M, Belacek J, Navratil T, Machajova M, Zakharov S. Markers of oxidative damage of nucleic acids and proteins among workers exposed to TiO₂(nano) particles. *Occup Environ Medicine* 2016

2012 Spirometrie – pokles 2 parametrů u **Dělníků** vs. **Kontrol**



%VCIN — plicní objem v inspiriu

% PEF — stupeň
obstrukce dýchacích cest



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 TiO2 production workers.** *Nanotoxicology* 2017

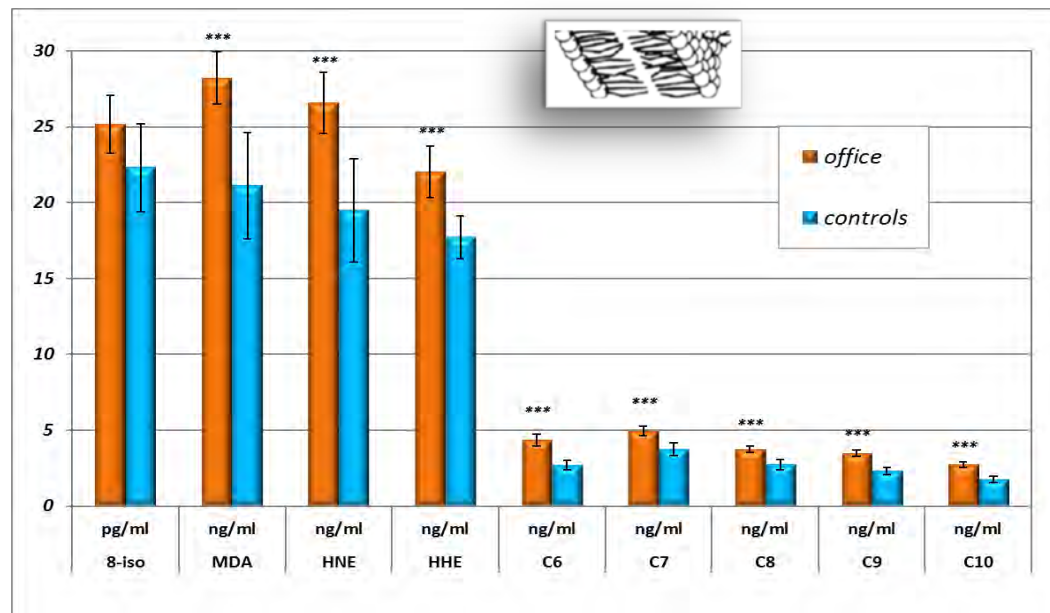
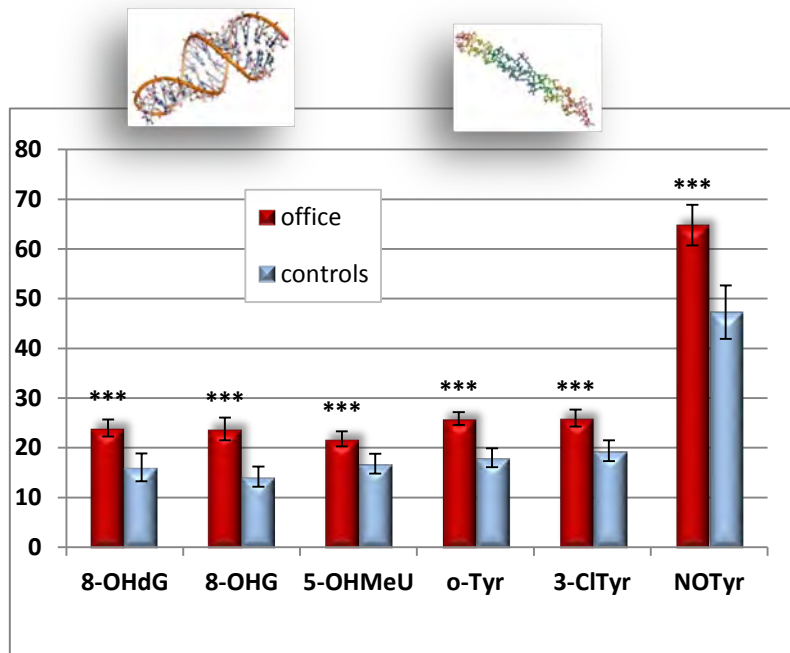
Mnohočetná regresní analýza – může za to expozice (TiO₂)



	8-OHdG (pg/ml)	8-OHG (pg/ml)	5-OHMeU (pg/ml)	o-Tyr (pg/ml)	3-CITyr (pg/ml)	3-NOTyr (pg/ml)
TiO₂ Expozice (Ano/Ne)	19,20*** (14,75; 23,66)	30,37*** (26,75; 34,00)	19,35*** (16,30; 22,40)	28,95*** (25,51; 32,38)	28,43*** (23,71; 33,14)	51,68*** (44,31; 59,04)
Věk (roky)	0,02 (-0,17; 0,21)	-0,02 (-0,17; 0,13)	0,06 (-0,06; 0,19)	-0,02 (-0,16; 0,13)	0,13 (-0,07; 0,32)	-0,06 (-0,36; 0,25)
Kouření (Ano/Ne)	-0,29 (-3,65; 3,07)	0,70 (-2,04; 3,43)	0,38 (-1,92; 2,69)	-0,46 (-3,05; 2,14)	-1,41 (-4,97; 2,14)	1,62 (-3,94; 7,17)
SO₂ (µg/m³) (CO, NO_x) environmentální	0,02 (-0,13; 0,17)	-0,02 (-0,14; 0,10)	-0,04 (-0,15; 0,06)	-0,13* (-0,24; -0,01)	-0,06 (-0,22; 0,10)	0,16 (-0,09; 0,41)

*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 TiO₂(nano) particles.** Occup Environ Medicine 2016*

Skupina 2 ÚŘEDNÍCI z TiO₂ a KONTROLY (2013)



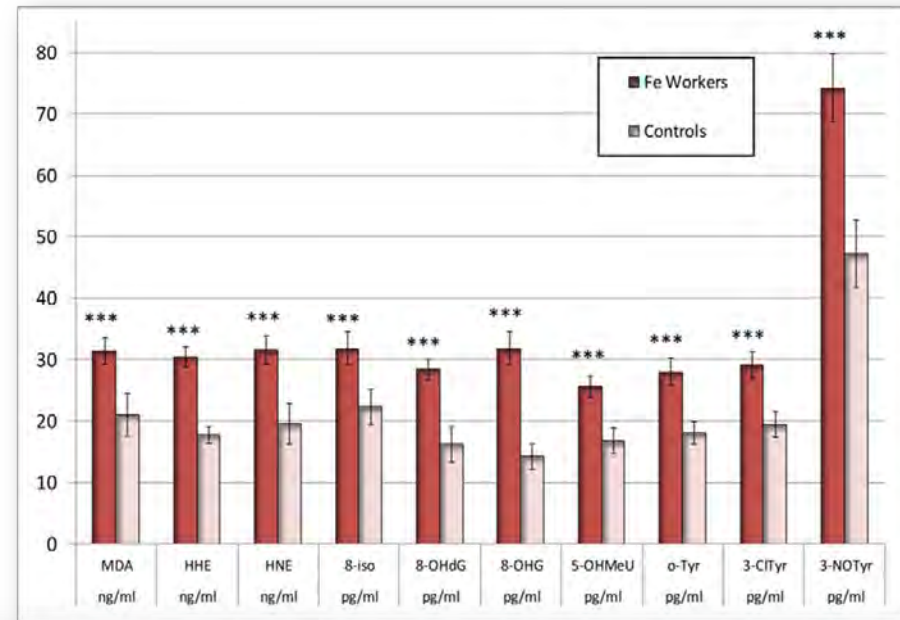
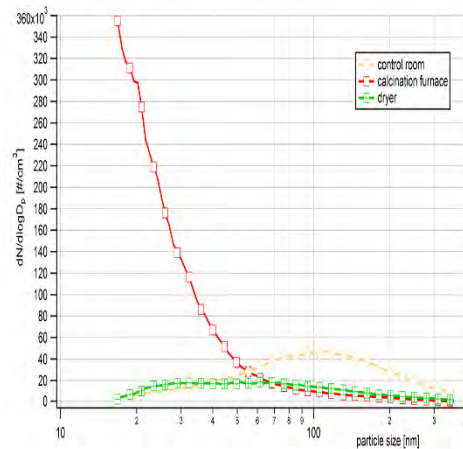
Pelclova D, Zdimal V, Kacer P, Vlckova S, Fenclova Z, Navratil T, Komarc M, Schwarz J, Zikova N, Makes O, Zakharov S. **Markers of nucleic acids and proteins oxidation among office workers exposed to air pollutants including (nano)TiO₂ particles.** *Neuro Endocrinol Lett.* 2016

Pelclova 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 nanoTiO₂ particles.** *Rev Environ Health* 2017

Skupina 3 VÝROBA Fe OXIDŮ (+nano) PIGMENTŮ 2013



80 % částic nano



J. Breath Res., 2016 Feb 1;10(1):016004. doi: 10.1088/1752-7155/10/1/016004.

Oxidative stress markers are elevated in exhaled breath condensate of workers exposed to nanoparticles during iron oxide pigment production.

Pecklova D¹, Zdimal V, Kacer P, Fenclova Z, Vickova S, Syslova K, Navratil T, Schwarz J, Zikova N, Barosova H, Turci F, Komarc M, Peckl T, Belacek J, Kukutschova J, Zakharov S.



Skupina 4 – VÝZKUMNÍCI NANOKOMPOZITŮ

2016, 2017, 2018 (2019, 2020)

61 VÝZKUMNÍKŮ před směnou a po směně
+ 62 KONTROL

Výzkum nových odolných nanokompozitů

- kovy a geopolymery (nano SiO_2 plnivo)

SVAŘOVÁNÍ nebo **OBRUŠOVÁNÍ**



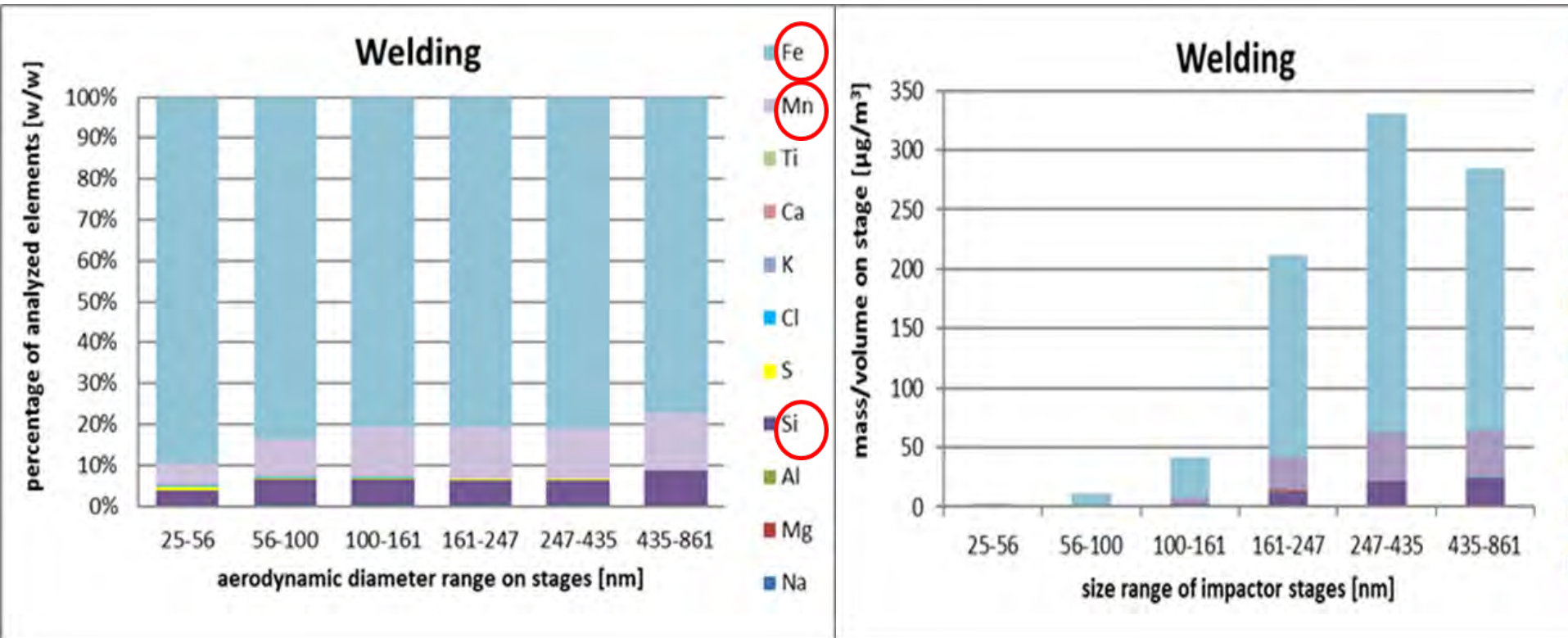
Hmotnostní koncentrace
- nejvyšší při **SVAŘOVÁNÍ**



Podíl (%) of nanočástic
– nejvyšší při **OBRUŠOVÁNÍ**

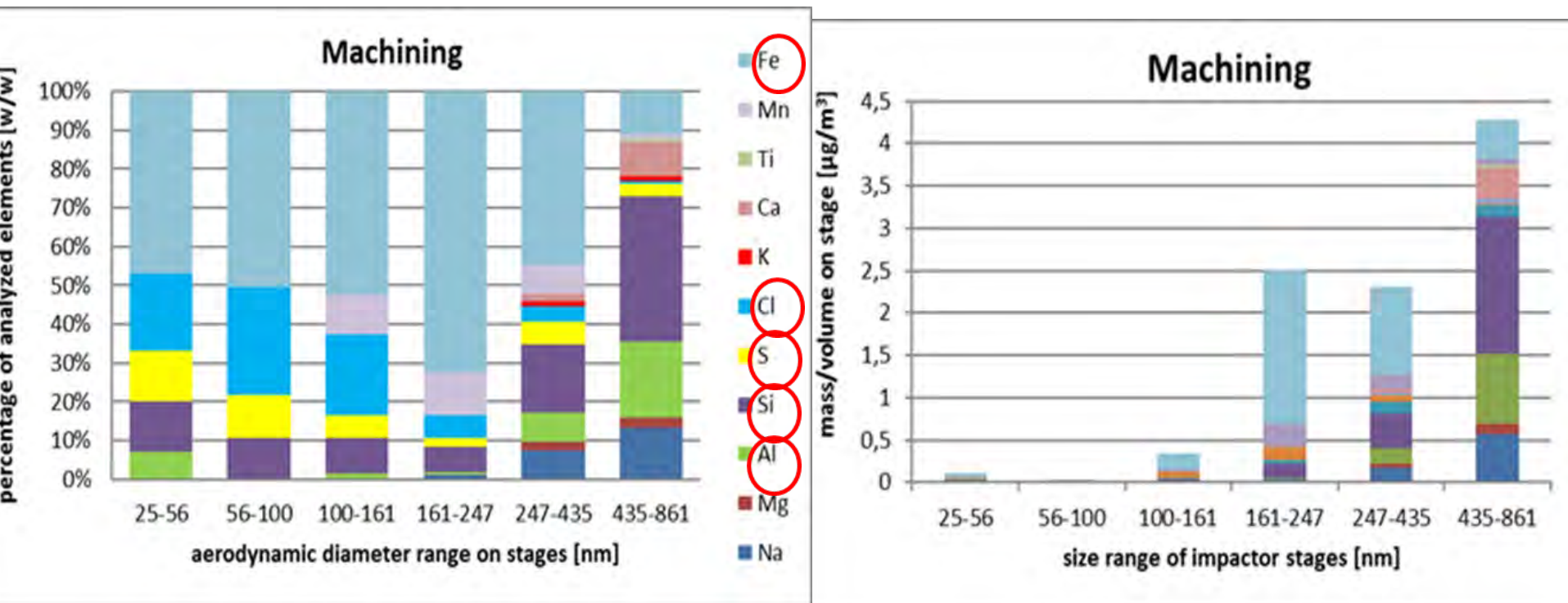
Poměrné (%) a absolutní množství ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) analyzovaných prvků (W/W)

SVAŘOVÁNÍ



Aerodynamický průměr [nm]

Poměrné (%) a absolutní množství ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) analyzovaných prvků (W/W) OBRUŠOVÁNÍ nanokompozitů

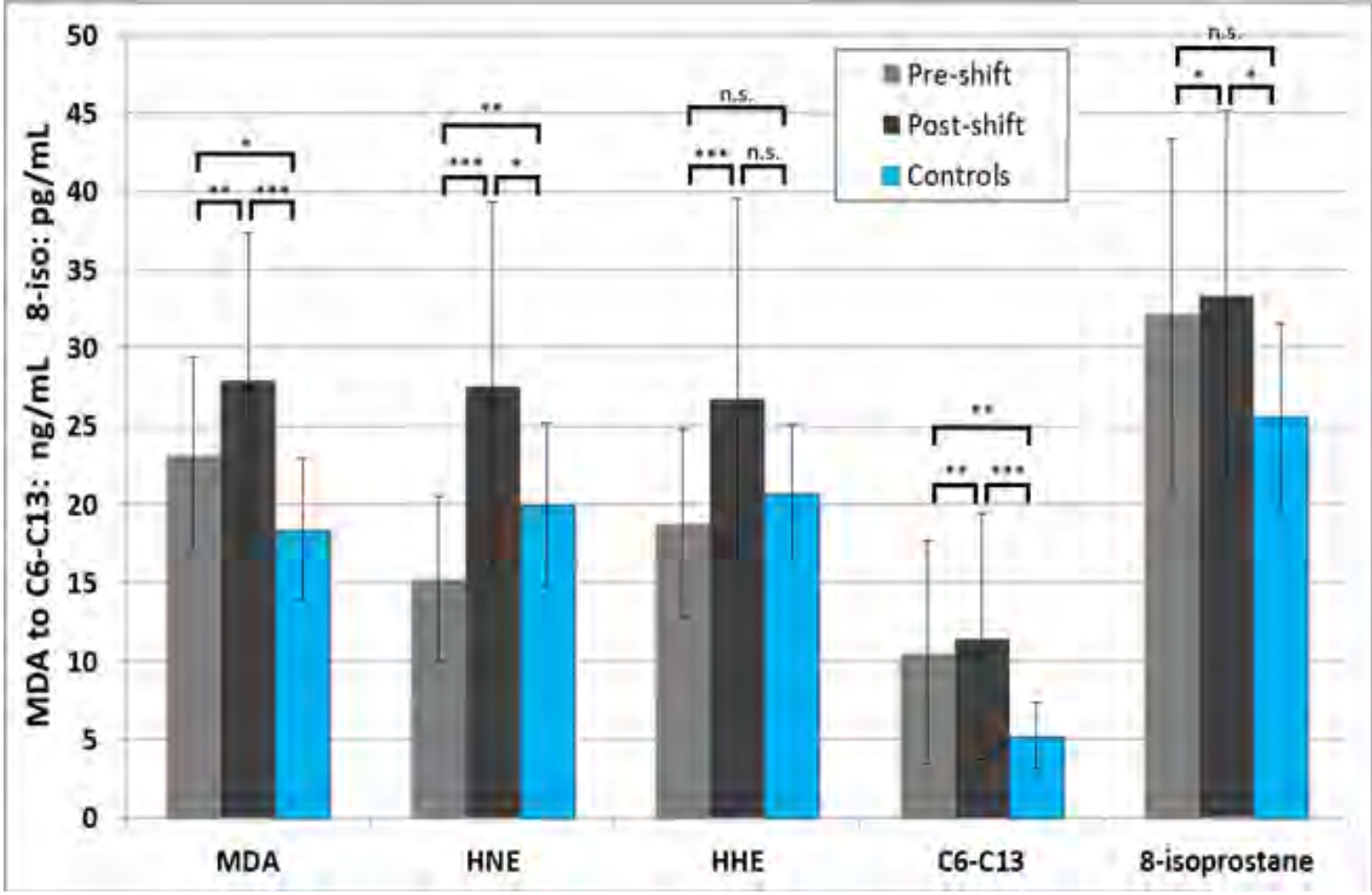


Aerodynamický průměr [nm]

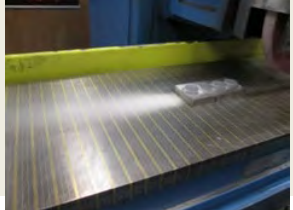
Markery oxidace lipidů – KVV - nanokompozity 2016

Dělníci před směnou a po směně vs. kontroly

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



Pelclova 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 (Basel). 2018



DECHOVÉ OBTÍŽE + plicní funkce

Chronická bronchitida častější:

4 (20 %) nanokompozity, vs. 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 $p<0,05$

Trvání expozice (ne však věk) negativně korelovalo s FEV1/FVC ($p<0,05$)

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

Pelclova D, Zdimal V, Komarc M, Vlckova S, Fenclova Z, Ondracek J, Schwarz J, Kostejn M, Kacer P, Dvorackova S, Popov A, Klusackova P, Zakharov S, Bello D. **Deep Airway Inflammation and Respiratory Disorders in Nanocomposite Workers.** Nanomaterials (Basel). 2018

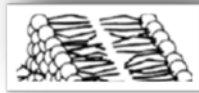


NANOKOMPOZITY

Mnohočetná regresní analýza



15 markerů v KVV **před směnou** – chronický efekt



	MDA	HNE	ALD6-12	OHdG	OHG	5-OHMeU	o-Tyr	3-ClTyr	3-NOTyr
Práce Ano/Ne	0,005	0,029	0,000	0,002	0,000	0,001	0,003	0,000	0,043
Věk roky	0,005	0,375	0,360	0,404	0,384	0,082	0,171	0,015	0,786
Pohlaví m/ž	0,740	0,151	0,652	0,174	0,612	0,406	0,126	0,277	0,196
Alkohol Ano/Ne	0,596	0,267	0,313	0,371	0,507	0,187	0,331	0,566	0,645
BMI	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

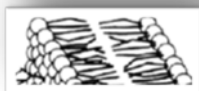
TNF	LTB4	LTD4	LTE4	LXB4	IL10
0,000	0,001	0,041	0,048	0,029	0,007
0,071	0,037	0,280	0,641	0,466	0,938
0,371	0,277	0,760	0,088	0,886	0,866
0,133	0,066	0,632	0,849	0,320	0,413
0,476	0,817	0,309	0,393	0,911	0,814

***Klíčová je expozice v práci,
efekt přetrvává do další
směny***

NANOKOMPOZITY

Mnohočetná regresní analýza ve všech skupinách

12 markerů v KVV **po směně**



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



Markery zánětu

$p < 0,001$

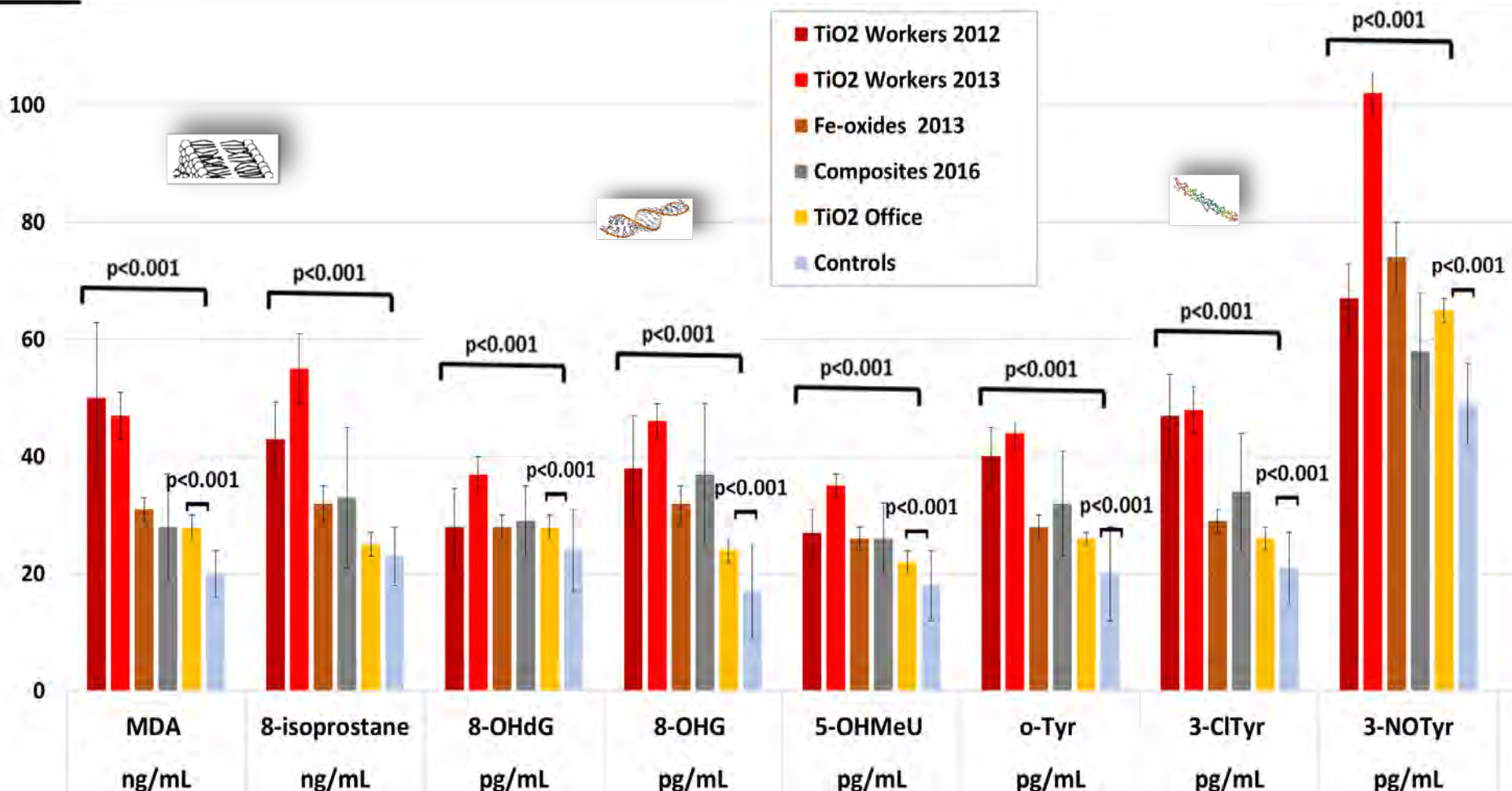
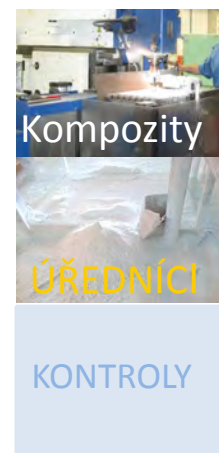
$p < 0,01$

$p < 0,05$

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

*Primární je expozice v práci,
efekt směny*

Vyšetření 6 skupin osob **po směně** - výsledky markerů OXIDAČNÍHO STRESU v KVV



Article

Three-Year Study of Markers of Oxidative Stress in Exhaled Breath Condensate in Workers Producing Nanocomposites, Extended by Plasma and Urine Analysis in Last Two Years

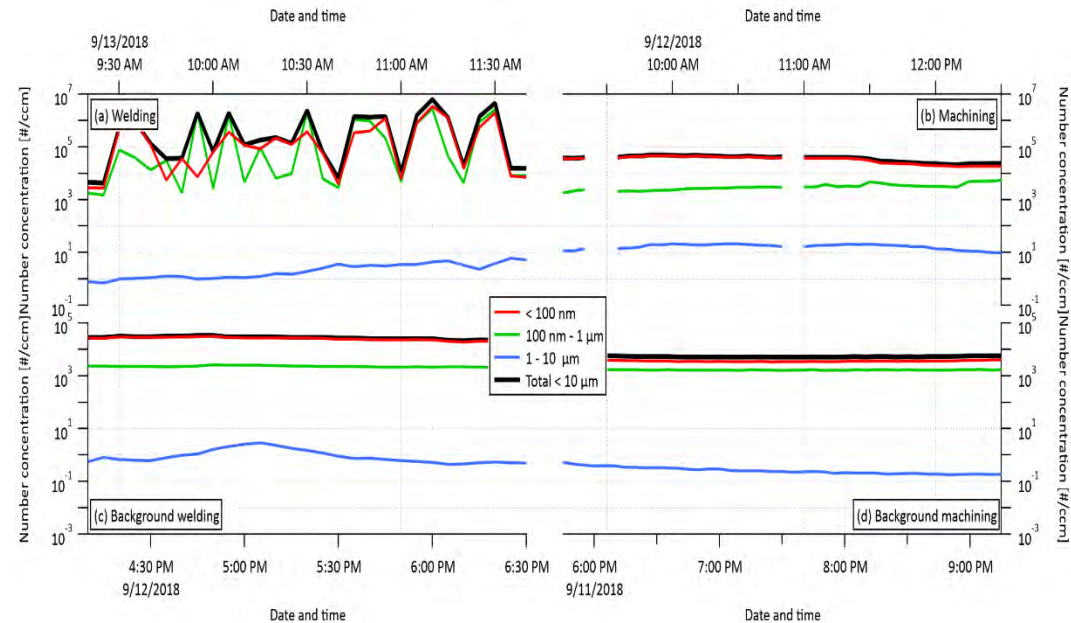
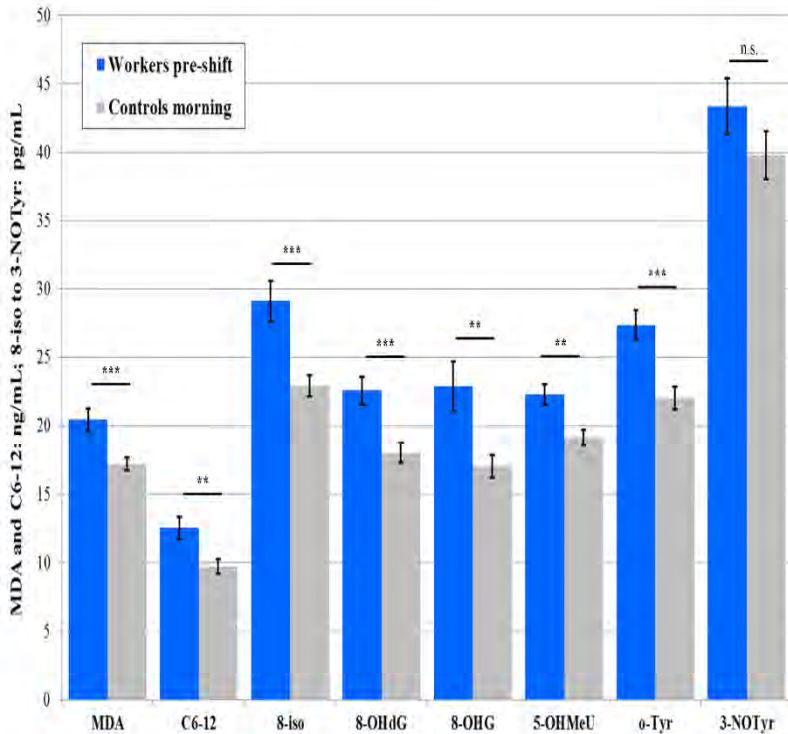
Daniela Pelcova ^{1,*}, Vladimír Zdimal ², Martin Komarc ^{3,4}, Jaroslav Schwarz ², Jakub Ondracek ², Lucie Ondrackova ², Martin Kostejn ², Stepanka Vlckova ¹, Zdenka Fenclova ¹, Stepanka Dvorackova ⁵, Lucie Lischkova ¹, Pavlina Klusackova ¹, Viktoriia Kolesnikova ¹, Andrea Rossnerova ⁶ and Tomas Navratil ⁷



WELDING



MACHINING



Průměr ±SD 2016, 2017, 2018
 všichni exponovaní **Před směnou** a všechny kontroly RÁNO

VZORKY KVV – největší rozdíly

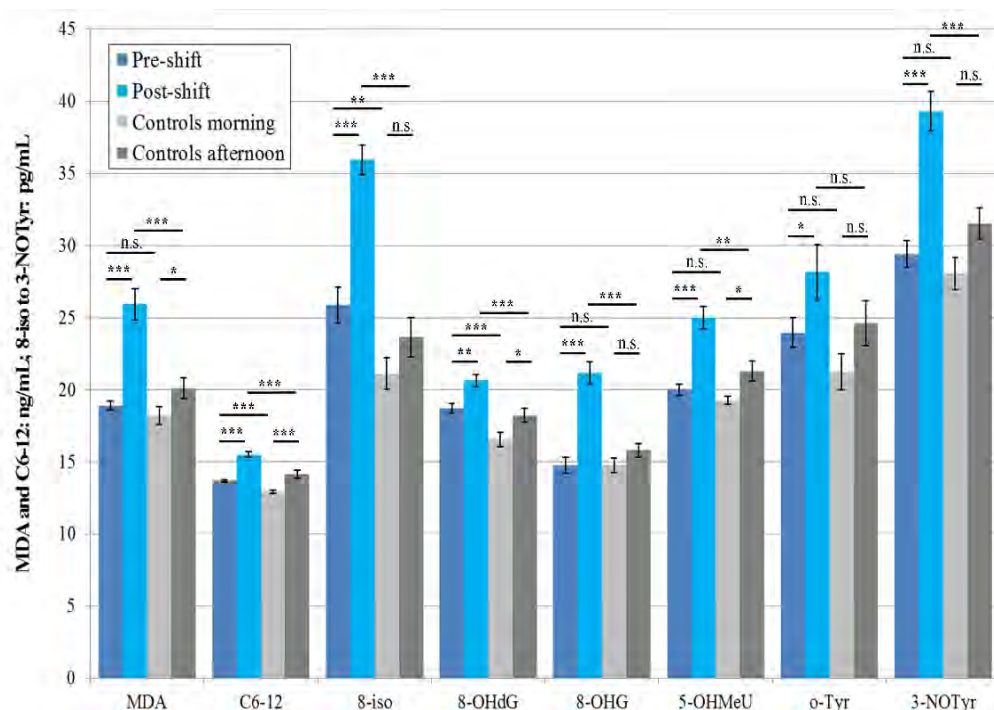
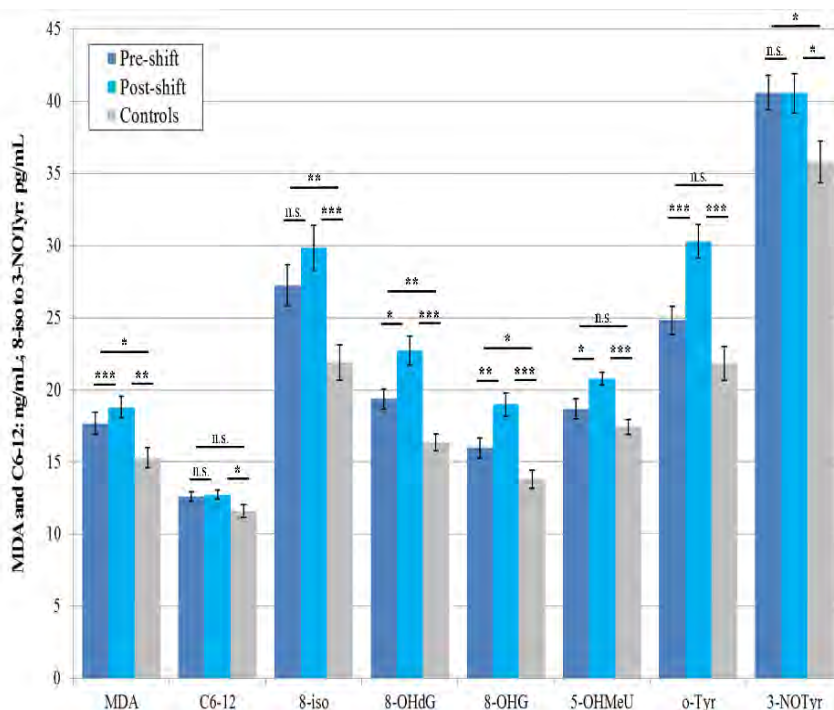


2017

2018

5 před směnou ↑ 5 x EFEKT SMĚNY ↑
8 po směně ↑ vs. kontroly RÁNO

3 před směnou ↑ 8 x EFEKT SMĚNY ↑
7 po směně ↑ vs. kontroly ODPOLEDNE



VZORKY PLAZMY

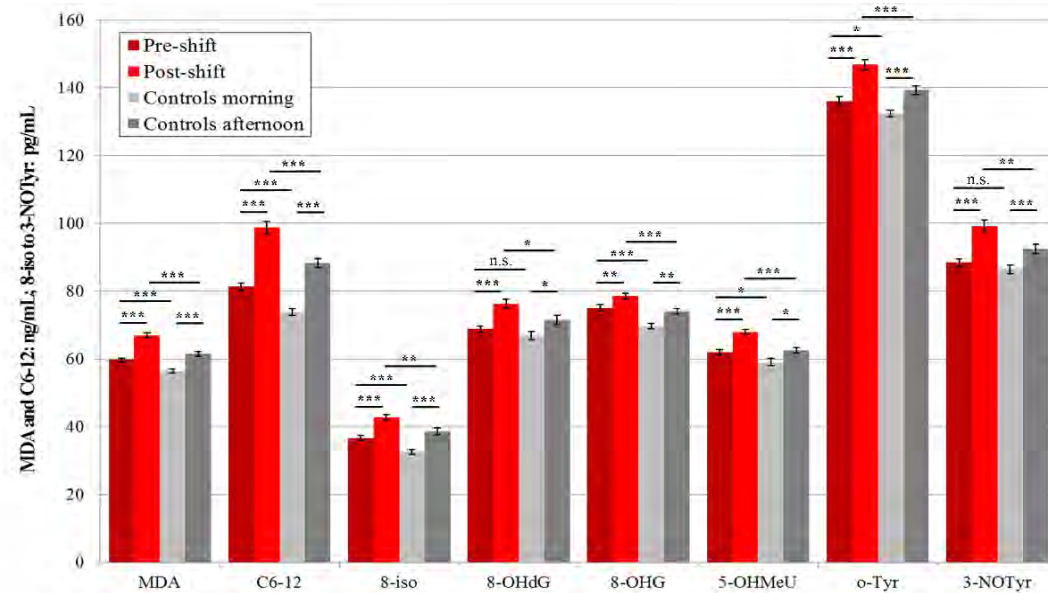
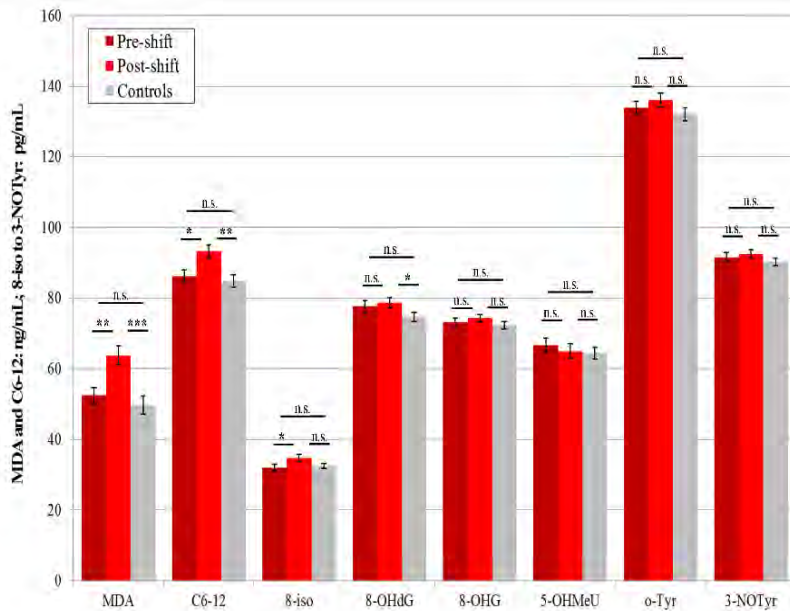


2017

0 před směnou ↑ **3 x EFEKT SMĚNY** ↑
3 po směně ↑ vs. kontroly RÁNO

2018

6 před směnou ↑ **8 x EFEKT SMĚNY** ↑
8 po směně ↑ vs. kontroly ODPOLEDNE



VZORKY MOČE –



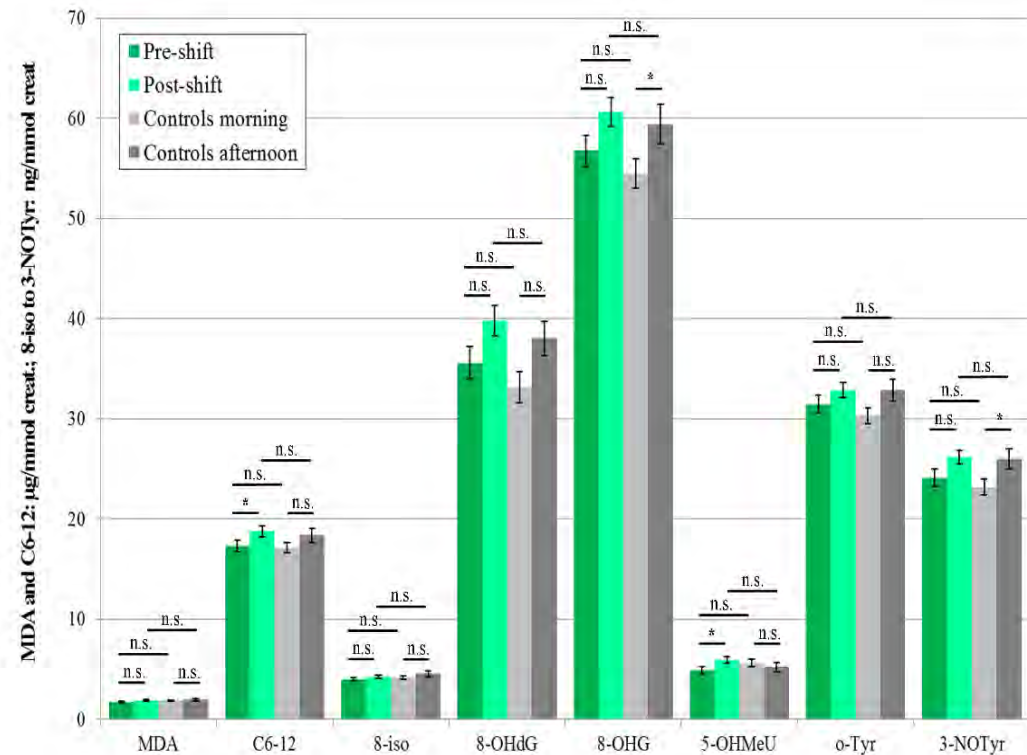
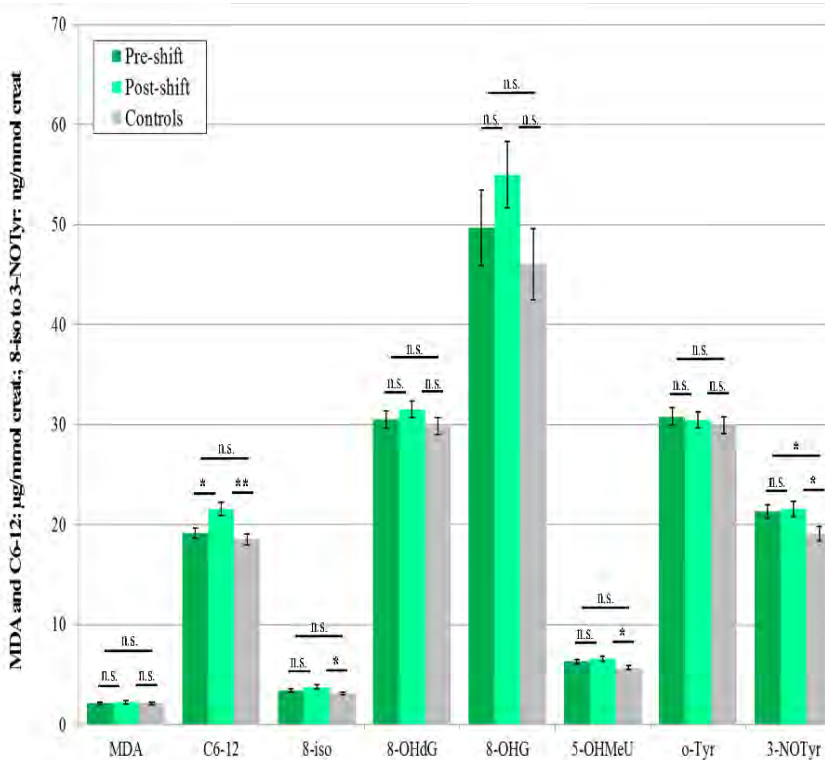
stejný trend, méně významný

2017

1 před směnou ↑ **1 x EFEKT SMĚNY** ↑
 4 po směně ↑ vs. kontroly RÁNO

2018

0 před směnou ↑ **0 efekt směny** ↑
 2 po směně ↑ vs. kontroly ODPOLEDNE



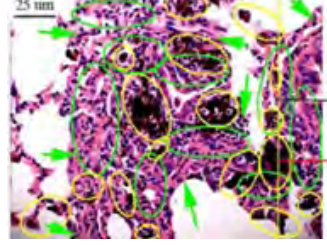
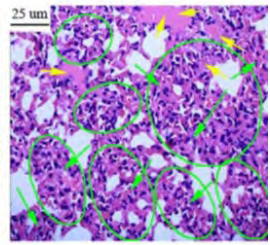
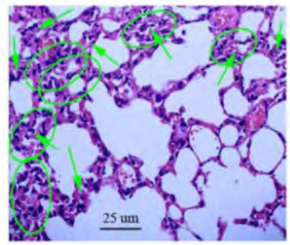
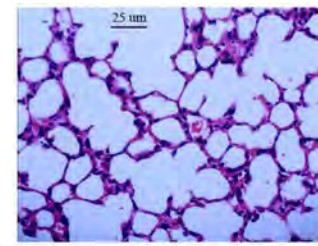


Molecular Mechanisms of Nanosized Titanium Dioxide-Induced Pulmonary Injury in Mice

Bing Li^{1,3}, Yuguan Ze^{1,3}, Qingqing Sun^{1,3}, Ting Zhang^{2,3}, Xuezi Sang¹, Yaling Cui¹, Xiaochun Wang¹, Suxin Gui¹, Danlin Tan¹, Min Zhu¹, Xiaoyang Zhao¹, Lei Sheng¹, Ling Wang¹, Fashui Hong^{1*}, Meng Tang^{2,3*}

Nosní aplikace suspenze nano-TiO₂ (6 nm) denně po 90 dní
2,5-10 mg/kg hmotnosti *kontrola*

Apoptóza, edém, zánět, zesílení intersticia
Změna exprese 847 genů, depozita aglomerovaného TiO₂,



2,5 mg/kg

5 mg/kg

10 mg/kg

Table 3. Oxidative stress in the mouse lung after nasal administration with nano-TiO₂ for 90 consecutive days.

Oxidative stress	TiO ₂ NPs (mg/kg BW)			
	0	2.5	5	10
O ₂ ⁻ (nmol/mg prot. min)	23±1.15a	30.27±1.51b	39.18±1.96c	50±2.50d
H ₂ O ₂ (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

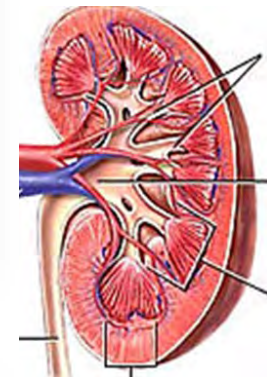
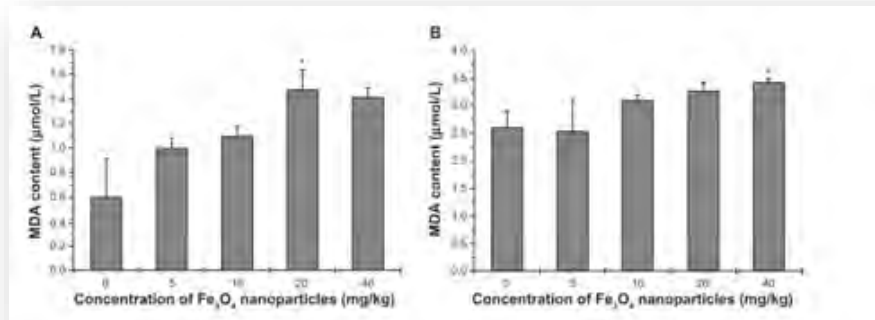


Intraperitoneal injection of magnetic Fe_3O_4 -nanoparticle induces hepatic and renal tissue injury via oxidative stress in mice

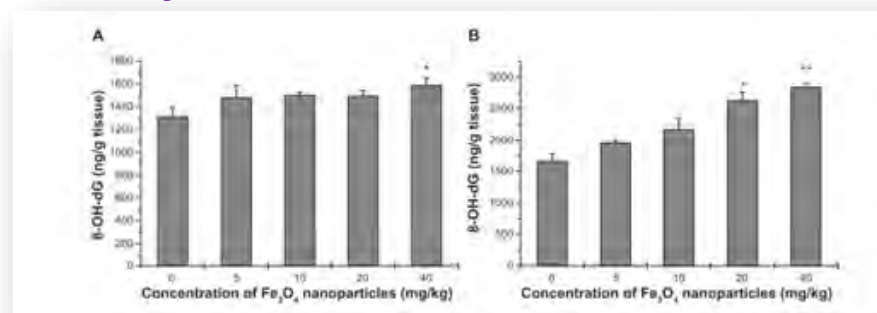


Ma et al. 2012

- Nano Fe_3O_4 i.p. 7 dní 5-40 mg/kg
- Zvýšení malondialdehydu (MDA) ve tkáni jater a ledvin

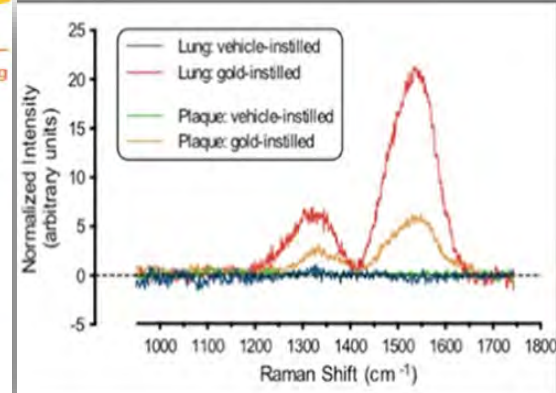


- Zvýšení 8-OHdG v játrech a ledvinách

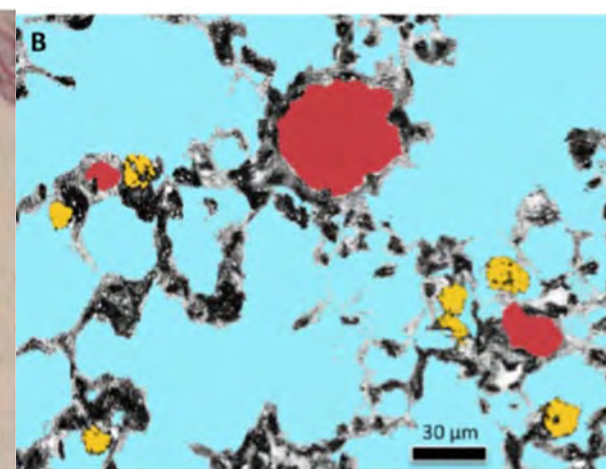
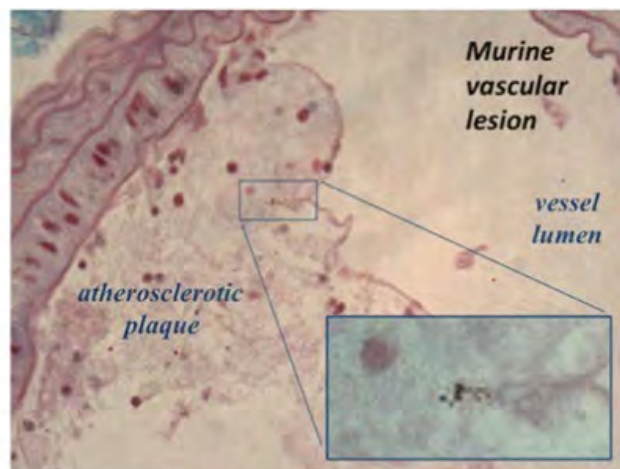
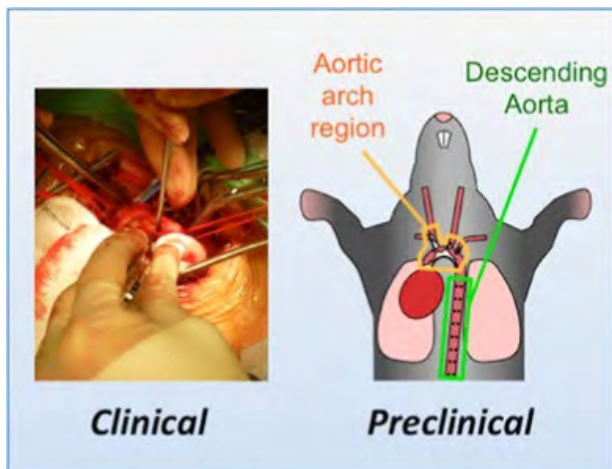


Inhaled Nanoparticles Accumulate at Sites of Vascular Disease

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



- 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-/-)

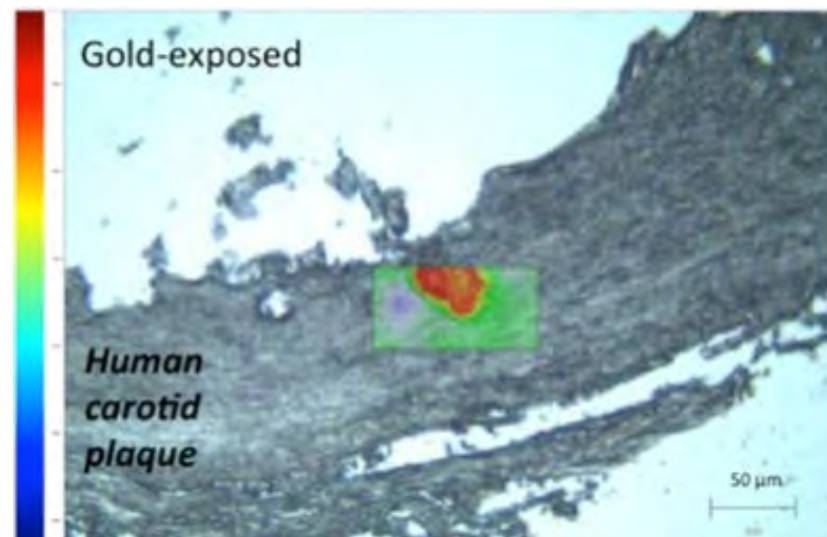
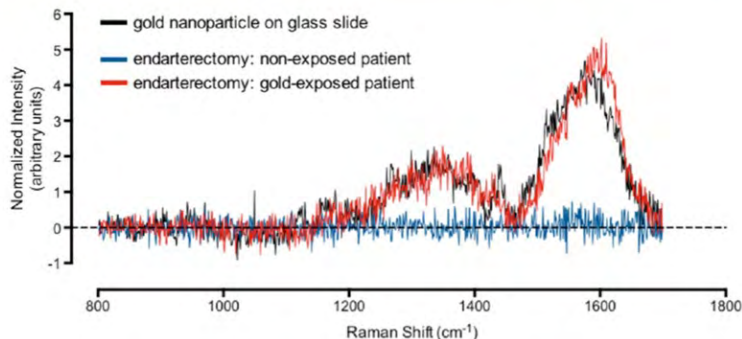
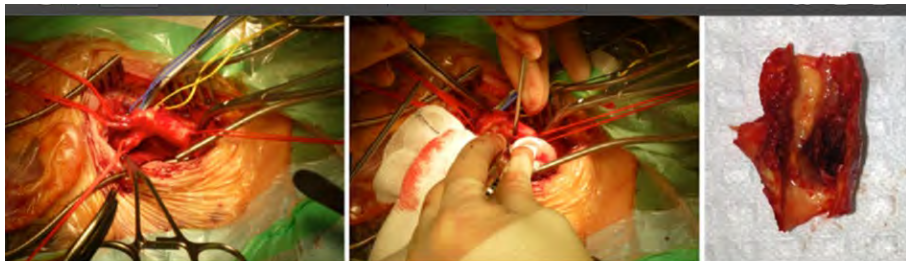


Inhaled Nanoparticles Accumulate at Sites of Vascular Disease

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

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 SH¹, Tsai CS², Pelclova D³, Schubauer-Berigan MK⁴, Schulte PA⁴.

Author information

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

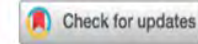
²Department of Environmental and Radiological Health Science, Colorado State University, Fort Collins, CO, USA.

³Department of Occupational Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic.

⁴National 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
- do r. 2015 jen 6 PUBLIKOVANÝCH STUDIÍ
- JEDNOTLIVÉ LÁTKY: TiO_2 (Česká republika, Čína), uhlíkové nanotrubičky (Rusko, Korea, Holandsko), oxidy železa (Česká republika), CaCO_3 (Čína), nano-saze v tonerech, (Japonsko), nanoAg (Korea)
- **International Agency for Research on Cancer (IARC) klasifikoval TiO_2 jako „possibly carcinogenic to humans“ (skupina 2B)**
- **NIOSH snížil limit nano TiO_2 na $0,3 \text{ mg/m}^3$**



Cardiopulmonary effects induced by occupational exposure to titanium dioxide nanoparticles

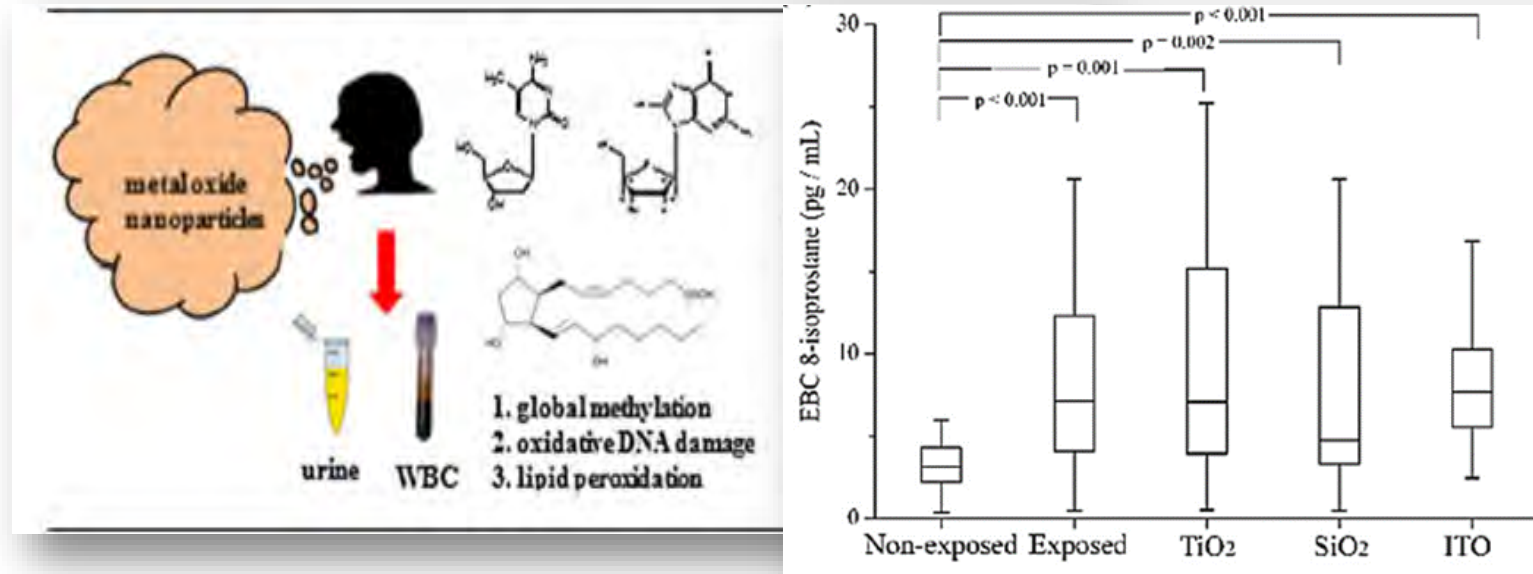
Zhao 2018

Lin Zhao^a, Yifang Zhu^b, Zhangjian Chen^a, Huadong Xu^a, Jingwen Zhou^c, Shichuan Tang^d, Zhizhen Xu^d, Fanling Kong^e, Xinwei Li^c, Yifei Zhang^f, Xianzuo Li^f, Ji Zhang^c and Guang Jia^a

- TiO₂ výroba v Číně
- TiO₂ baliči 3,17 mg/m³, 39% nano TiO₂
- **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 ex
- **Porucha plicních funkcí** (p < 0.05)
- ***Všechny markery asociované s expozicí TiO₂***



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 26xTiO₂, – 31x SiO₂, 30x Indium Tin Oxide (ITO, cínem dopovaný oxid inditý, průhledný vodivý oxid pro výrobu displejů, svítivých diod a fotovoltaiky.

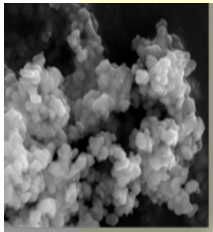
43 kontrol

Expozice může vést k poškození DNA, peroxidaci lipidů a hypomethylaci – blokáda methylace DNA methyltransferázou – vede k aktivaci onkogenů a nestabilitě genomu – souvislost s tvorbou nádorů,....

Lipid peroxidation metabolites associated with biomarkers of inflammation and oxidation stress in workers handling carbon nanotubes and metal oxide nanoparticles

Wei-Te Wu ¹, Wei-Ting Jung ², Hui-Ling Lee ²

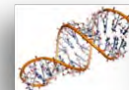
- Kondenzát vydechovaného vzduchu (KVV) a moč
- 30 dělníků nano-TiO₂
- 28 nano-SiO₂
- 22 uhlíkové nanotrubičky
- 69 úředníků
- Taiwanská studie potvrdila vyšší koncentraci 8-izoprostanu a příbuzných metabolitů v KVV – oxidační stres
- Korelace s mírou expozice
- KVV – užitečná neinvazivní metodika pro vyšetřování exponovaných dělníků



Závěry



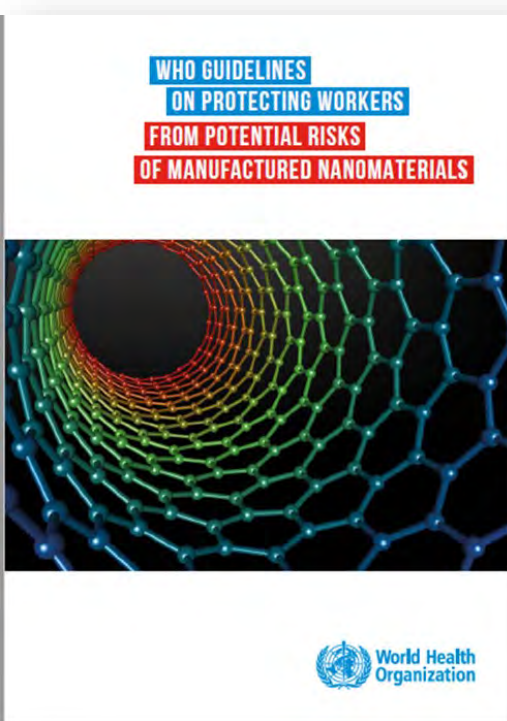
- Výsledky podporují hypotézu oxidačního stresu a upozorňují na poškození plic na molekulární úrovni
- Kolektivní test – minimum 20 exponovaných + 20 kontrol
- Kontrolní skupina ze stejné lokality
- Minimálně 2 biologické tekutiny – **KVV**, **plazma**, **moč**
- Několik biomarkerů všech typů
- Správné časování – PO SMĚNĚ vs. KONTROLY ve stejný čas může ukázat jak chronický, tak akutní efekt a eliminovat denní variace
- SPIROMETRIE může prokázat zhoršení po směně/ zejména po letech expozice
- RTG PLIC po dlouhodobé vysoké expozici
- *FeNO není dostatečně citlivé ani specifické – vliv kouření*



Výsledky byly zohledněny při hodnocení nanoTiO₂ ve spreji

WHO 2017

EC 2018



Spray productsstudies 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 TiO₂ intended for dermal applications and had specifically excluded spray products. In fact, the Opinion had expressed concerns over the safety of TiO₂ nanomaterial applications in spray products that could lead to exposure of the consumer's lungs to TiO₂ nanoparticles via inhalation.

Další plány



- Další vyšetření proběhlo v září 2019 a v září 2020
- Osobní odběrové sety na expozici nanočásticím – PENs (Taiwan)
- Zmražené vzorky KVV, plasmy, moče (-80 °C)
- Antioxidační kapacita, GSH reduktáza, GSH transferáza
- Nanočástice ve vzorcích 2016-2020 (Ramanova metoda, Nizamov 2017)
- Je třeba dalších studií – výsledky nejsou specifické pro nanočástice
- ale nenacházíme v literatuře publikace prokazující “no effect”
- Jsme otevřeni spolupráci 😊
- CAVE – podoba s nálezy u silikózy a pacientů s azbestem v plicích

Pelclová D et al. 8-isoprostane and leukotrienes in EBC in Czech subjects with silicosis. Ind Health. 2007

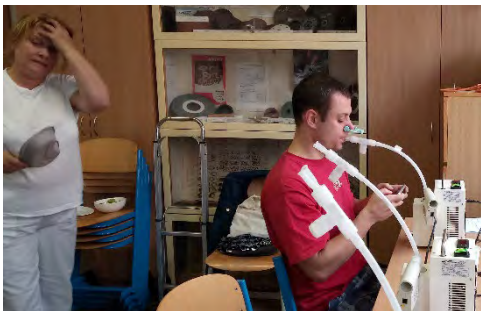
Pelclová D et al. Increased 8-isoprostane, marker of oxidative stress in EBC in asbestos exposure. Ind Health. 2008



Děkuji všem kolegům

*Klinika pracovního lékařství VFN a 1. LF UK, Praha
Ústav chemických procesů AV ČR, v.v.i., Praha
Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, AV ČR v.v.i., Praha
Technická Univerzita v Liberci*

PROGRES Q25/LF1 a Q29/LF1, GAČR 18-02079S



OPERAČNÍ PROGRAM PRAHA
KONKURENCESCHOPNOST



*Evropský fond pro regionální rozvoj
Praha & EU: Investujeme do vaší budoucnosti*