



EKOMONITOR



Praha | 13. 10. 2021



Seminář **Nanobezpečnost**

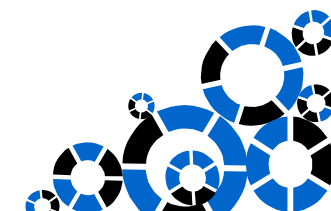
Odhad rizik spojených s toxickými účinky nanomateriálů

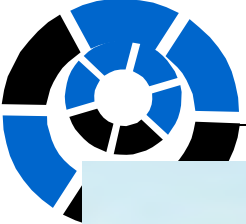
Ing. Mgr. **Táňa Závodná, Ph.D.**



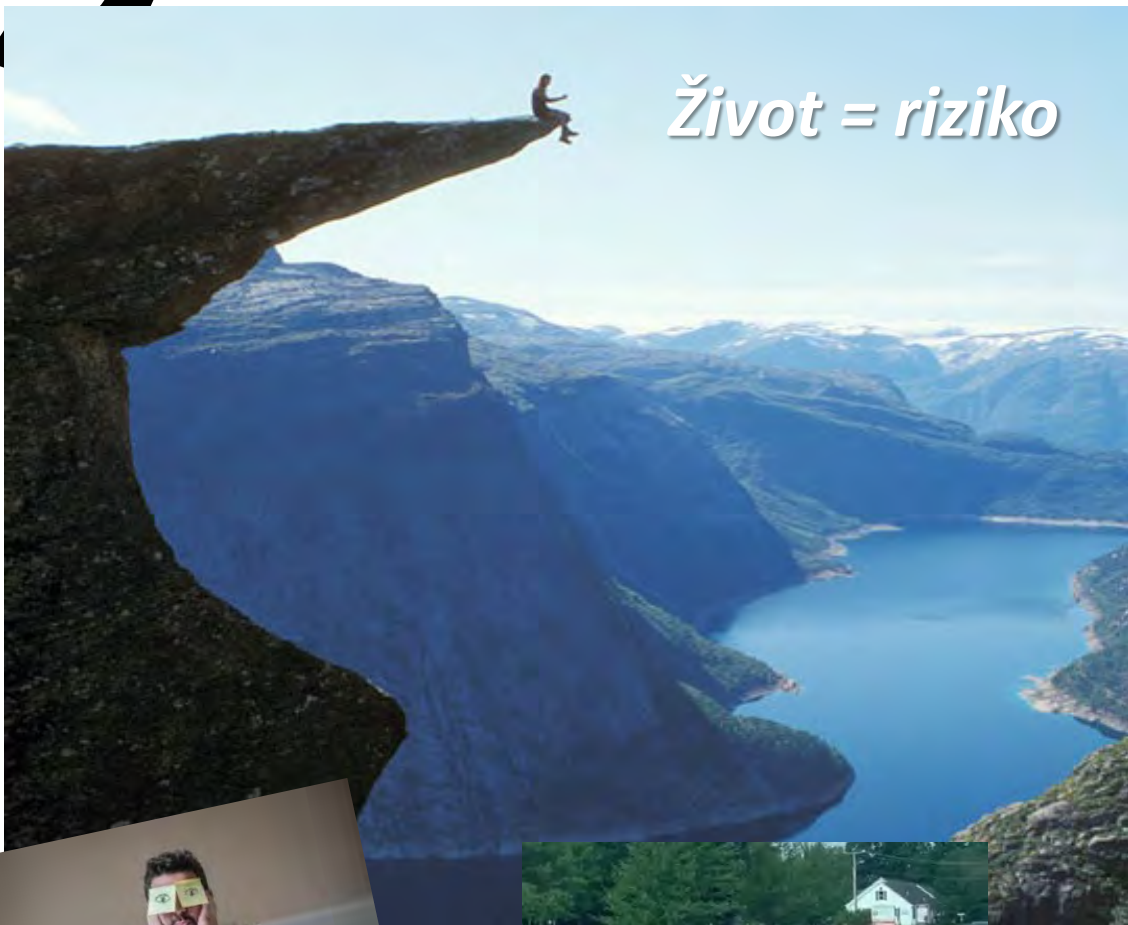
Ústav
experimentální
medicíny AV ČR, v.v.i.

EU Centre of Excellence

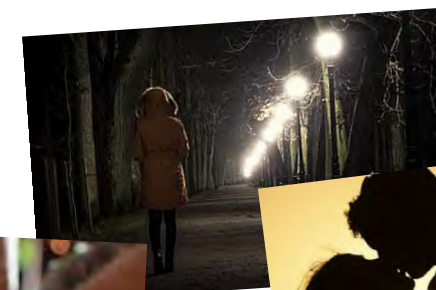
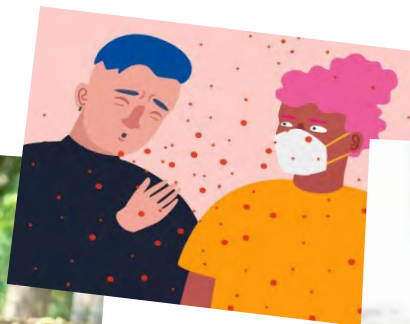




Všichni jsme manažeři rizik 😊



Život = riziko



Zákaz dihydrogen monoxidu?



THESE PRODUCTS SHOULD NOT CONTAIN THE SAME CHEMICALS



YET DIHYDROGEN MONOXIDE CAN BE FOUND IN BOTH

DHMO KILLS

DANGERS

- lethal brain-swelling can result from DHMO toxicity- there have been several documented fatalities
- corrosive to metal
- scientists CANNOT agree on a safe amount for adults OR children
- can cause dangerous electrolyte imbalances
- approximately 98% of nephrologists agree DHMO will exacerbate kidney damage

USES

- cardboard manufacturing
- cleaning solvent
- routinely included in inhumane animal research
- food companies market it as "natural", but often chlorinated to kill algae
- use of DHMO banned in over 10 countries— critics call its use "torture"
- restricting consumption shown to promote weight loss

PLACES

- found in most processed foods, though the FDA does not always require companies label its inclusion! [see 21 CFR 101.4 (a); 21 CFR 101.4(c); Compliance Policy Guide 555.875]
- difficult to detect— odorless and colorless; current research indicates some may be able to taste this chemical
- found in pet food

HIGH PERCENTAGES OF DIHYDROGEN MONOXIDE HAVE BEEN FOUND IN CHILDREN WITH AUTISM



THESE PRODUCTS ALL CONTAIN DIHYDROGEN MONOXIDE



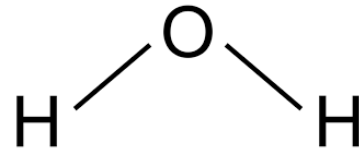
WAKE UP and BAN Dihydrogen Monoxide

DHMO.org

IF DIHYDROGEN MONOXIDE CAN RUST THESE PIPES

JUST IMAGINE WHAT IT'S DOING TO YOUR INSIDES





Purification

can help you remove natural toxins from your body and help maintain a healthy weight.



Water plays a vital role in how cells talk to each other to orchestrate full body movement, overall health and well-being.



Health Benefits of Drinking Water

- 1 Better fat metabolism
- 2 Decreased cravings
- 3 Flushes toxins from the body
- 4 Healthier skin and complexion



The *miracle drink* that will improve your health, control your weight, clear your complexion and so much more.



AM I DEHYDRATED?
Here's how to tell

Signs of MILD to MODERATE dehydration include:	Signs of SEVERE dehydration include:
THIRST	RAPID BREATHING
FATIGUE	SEVERE DIZZINESS OR LIGHTHEADEDNESS
DRY MOUTH	RAPID HEARTBEAT
HEADACHES	UNCONSCIOUSNESS OR DELIRIUM

Cranky?
Even minor dehydration can cause irritability, fatigue, headaches and impaired concentration.

Good hydration *is for life!*

BENEFITS OF DRINKING WATER

- ✓ Weight Loss
- ✓ Digestion
- ✓ Brain
- ✓ Skin
- ✓ Headache Cure
- ✓ Energy
- ✓ Better Exercise

HYDRO POWERED

FRESH THINKING
- DRINK WATER -

WATER IS THE BEST CHOICE

Feeling Incomplete?
Around 60% of your body consists of water

Unable to Concentrate?
Mild dehydration reduces concentration

Sluggish?
Water can boost your energy levels

Drink More Water

Drinking water is like taking a shower on the inside of your body

Water Drink Reminder

Stay Healthy. Stay Beautiful

The Easiest Healthy Habit you can adopt?

Just drink more water.

You are what you drink

Drink Water!

BETWEEN 50% AND 75% OF THE BODY IS MADE UP OF WATER

Most important function of water in our body

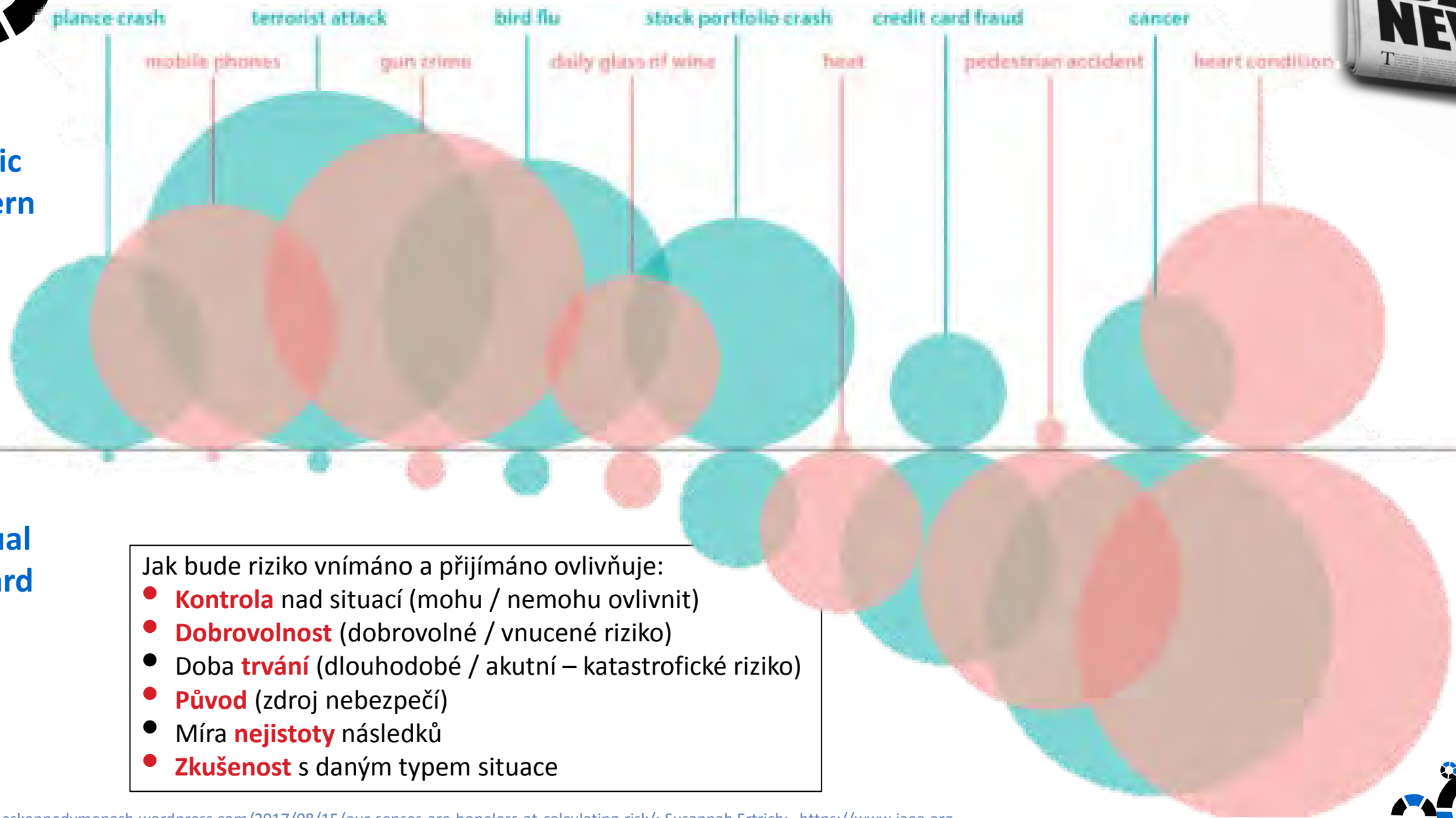
- Increase the metabolism
- Improves overall digestion of food
- Maintain proper body temperature
- Flushing the toxins out of body
- Strengthens the hair follicles and reduces hair fall
- Circulation of oxygen
- Blood circulation in the body
- Keep you fuller for longer so you eat less
- Common skin problems like dry skin and acne



Iracionalita ve vnímání rizik



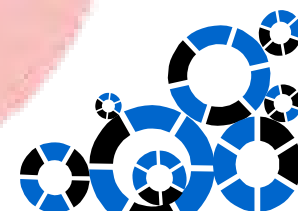
Public concern



Actual hazard

Jak bude riziko vnímáno a přijímáno ovlivňuje:

- **Kontrola** nad situací (mohu / nemohu ovlivnit)
- **Dobrovolnost** (dobrovolné / vnucené riziko)
- Doba **trvání** (dlouhodobé / akutní – katastrofické riziko)
- **Původ** (zdroj nebezpečí)
- Míra **nejistoty** následků
- **Zkušenost** s daným typem situace



Jak nehodnotit rizika nanomateriálu



The Differential Cytotoxicity of Water-Soluble Fullerenes

Christie M. Sayes,¹ John D. Fortner,² Wenh Guo,³ Delina Lyon,² Adina M. Boyd,¹ Kevin D. Ausman,⁴ Yizhi J. Tao,^{1,3} Balaji Sitharaman,¹ Lon J. Wilson,^{1,5} Joseph B. Hughes,¹ Jennifer L. West,^{1,5} and Vicki L. Colvin^{1,1,5}

NANO
LETTERS

2004
Vol. 4, No. 10
1881–1887

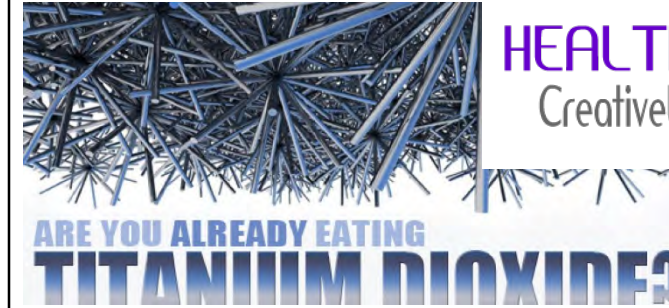
<https://lamav.com/blogs/articles/the-dangers-of-nanoparticles-in-cosmetics-are-your-products-safe>

Due to cosmetic companies not having to declare that their products use nanotechnologies/ nanoparticles in cosmetics during the manufacturing process, the only option open to an informed consumer like yourself, is to use **products which specifically state that there are no nanoparticles present**. Only then can you be certain that you are protecting your health and your skin, by **avoiding subjecting your body to the dangers of nanotechnology in cosmetics**. It's down to you to make an informed choice.

Should a process used to make metals and **plastics** really be applied to your beautiful skin?

Put it this way, would you eat metal? No, but you're still absorbing particles of it when using these products!

A fullerene is a carbon ball-shaped particle which is of particular concern. Studies are showing that when applied to the skin, these particles can be easily absorbed into the body. These particles have been seen to cause **severe brain damage in some animals and even kill others**. In humans they have been linked with liver damage and may even affect the human body's immune system.



HEALTHY TREE FROG
Creatively Promoting Vitality

<https://www.healthytreefrog.com/food-industry-poisoning-nanoparticles/>

What about the food industry's liability in saturating our food supply with trillions of nanoparticles per serving, without warning the consumer?

According to Tom Philpot, writing for [Grist in 2010](#), "As with **GMOs, the strategy seems to be: release into the food supply en masse first; assess risks later (if ever).**"

This strategy, while a seemingly successful short-term business model for nanotechnology stakeholders, is utter insanity when one considers the long-term fall out it will have on the industry once **millions wake up to the fact they have been treated, once gain, like guinea pigs**.

Moreover, as a growing body of **peer-reviewed research on the dangers of nanoparticles accumulates**, the millions who have already been exposed unknowingly to their ill effects have a legal right to **sue for damages**. The food industry's increasingly nefarious stance towards the very consumers who ensure their continued business defies logic, and indicates just how unethical their business model really is.

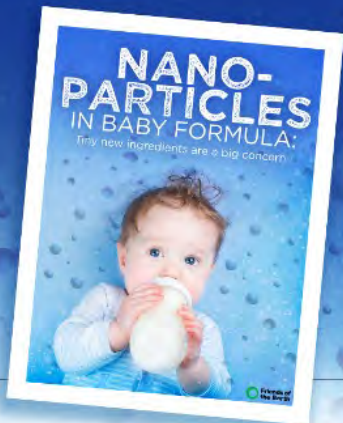
Úspěchy nanostrašení



https://commons.wikimedia.org/wiki/File:No_Nano_Grenoble_P1150729.jpgv

Activists protested the development of nanotechnology, scrawling 'No Nano' graffiti on the Grenoble city's bastille

BREAKING:
New report finds tiny, hazardous nano-ingredients in baby formula



Friends of the Earth

<https://www.bewellstaywell.com/Earths-Beauty-Q-and-A-s/167.htm>

March 09, 2017

By Suzanne Maher

Detox the Nano Raining Down On Us With the Anti – Nano Bath!

It's really important to have protocols and solutions to help mitigate the toxic load we are taking in daily from the aerosol spraying and from our contaminated food and water supply.

This bath is suggested by Herbalist/R&D man Tony Pantalleresco. It helps to put the nano technology in our bodies to sleep and to render it inert so it can pass through our bodies. It will not "kill it" but it will help to start removing the layers of embedded materials in our bodies.

These solutions are not a "cure-all" or a panacea, many of us are incredibly loaded with this biology and it will take time to strengthen a defaced immune system, but this protocol can be a very effective tool to detox your body from the daily loading of this synthetic biology in our bodies. Combine this bath with Tony's Anti Nano Bucket and his newly devised Anti Nano Magnetic Triangle and you have one heck of a powerhouse trio to battle the ongoing environmental assault.

<https://byebyebluesky.com/detox-the-nano-technology-biologicals-and-chemicals-raining-down-on-us-with-the-anti-nano-bath/>



Are Nanoparticles Secretly Poisoning Food?

7,703 views

131 likes, 5 dislikes, SHARE, ...



TheLipTV ©
Published on Jun 3, 2014

SUBSCRIBE 321K

„Great the chemtrails weren't bad enough .now we can't even trust our food.“

„I didn't even know this junk was ALSO in our food. Makes me want to go vegan and grow my own fruit and veggies.“

„What do these people gain from doing this“

„Are "they" also contaminating organic foods with these particles? Are no foods exempt from this nightmarish process?“



Which SUNSCREENS are Chemical free and Non-Nano?








<https://www.ecoamigable.com/paraben-free-sunscreen-without-oxybenzone/>





<https://www.bewellstaywell.com/Earths-Beauty-Q-and-A-s/167.htm>



Všechno je potenciálně toxické...

Material	What the heck is it?	LD50 (mg/kg)*	toxic category**
water 	You know this one.	90000	practically non-toxic
sucrose 	...and this one. Refined from sugar cane or sugar beets	30000	practically non-toxic
citric acid	A chemical in citrus fruits (lemons, oranges, etc)	12000	slightly toxic
ethanol (component in many bevies) 	Hic!	7000	slightly toxic
glyphosate	A broad-spectrum systemic herbicide used to kill weeds brought to market under tradename RoundUp	5600	slightly toxic
sodium bicarbonate (baking soda)	One word: Biscuits 	4220	moderately toxic
sodium chloride (table salt) 	Not too much now...	3000	moderately toxic
acetaminophen	Whoa...I'm getting a headache	1944	moderately toxic
hydrogen peroxide	Common household product often used industrially for drinking water and waste water treatment	1580	moderately toxic
theobromine 	Is a bitter alkaloid of the cacao plant in CHOCOLATE (<i>What the heck is this doing on this list?</i>)	1265	moderately toxic
Rotenone	A broad-spectrum insecticide and pesticide approved for use in organic production	132-1500	very toxic
copper sulfate	A compound approved for use in organic production as a fungicide	300	very toxic
caffeine 	Gasp. See <i>italicized</i> comment on chocolate^	192	very toxic
DDT	Tasteless and almost odorless chemical known for its insecticidal properties. Was used in WWII to control malaria and typhus.	113-800	very toxic

Nicotine 	A potent alkaloid found in the nightshade family of plants (Solanaceae) and a stimulant drug and a major contributing factor to the dependence-forming properties of tobacco smoking.	50	extremely toxic
cyanide	Cyanides are produced by certain bacteria, fungi, and algae and are found in a number of plants - used in mining, industrial organic chemistry and for pest control.	10	extremely toxic
vitamin D 	Vitamin D toxicity can occur when you have excessive amounts of vitamin D in your body by megadoses of of vitamin D supplements (not by diet or exposure to the sun).	10	extremely toxic
Strychnine	Is a highly toxic, colorless, bitter crystalline alkaloid used as a pesticide, particularly for killing small vertebrates such as birds and rodents.	1-2	super toxic
aflatoxin	Naturally occurring mycotoxins produced by species of fungi. 14 different types of aflatoxin are produced in nature. They can colonize and contaminate grain before harvest or during storage.	0.003	super toxic
botulin	A protein and neurotoxin produced by a bacterium. In its pure form, it is the most acutely toxic substance known. Preparations of the toxin can be effectively used for therapeutic or cosmetic purposes.	0.00001	super toxic

Sources: 'The Dose Makes the Poison' in *Assessing Toxic Risk* (http://ei.cornell.edu/teacher/pdf/ATR/ATR_Chapter1_X.pdf); various Wikipedia entries; various MSDS sheets found online.

Inspiration: Joni Rose's witty and informative FB post in response to (mis)understanding about chemicals and toxicity.

*Please note: the LD50 levels outlined are based on oral ingestions by rats

**Toxicity rankings are based on the EPA's categorization (I through IV) ([Title 40 of the Code of Federal Regulations](#)).

@DocCamRyan



Dávka dělá jed!



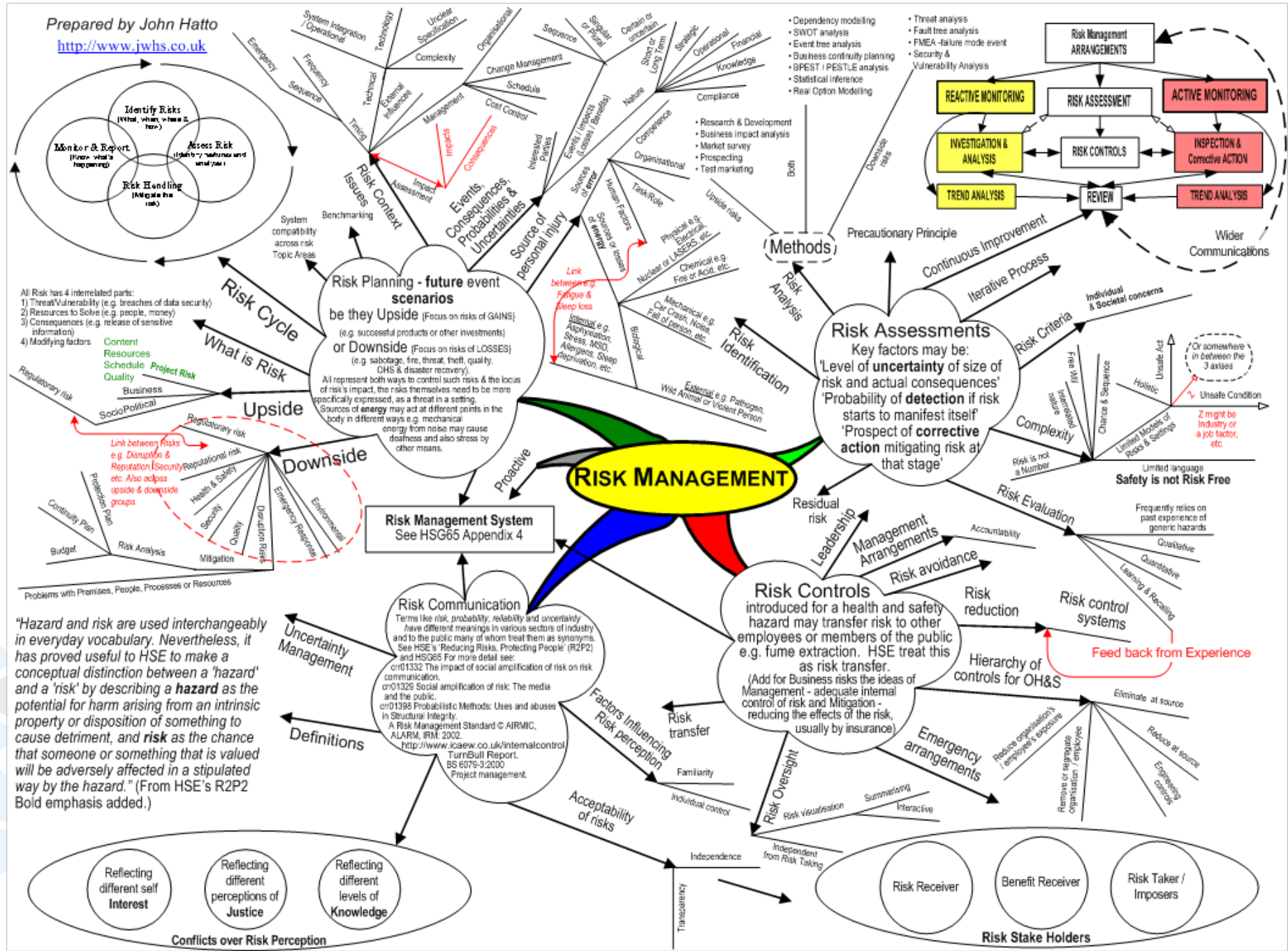
Paracelsus



Poison is in everything, and no thing is without poison. The dosage makes it either a poison or a remedy.

AZ QUOTES



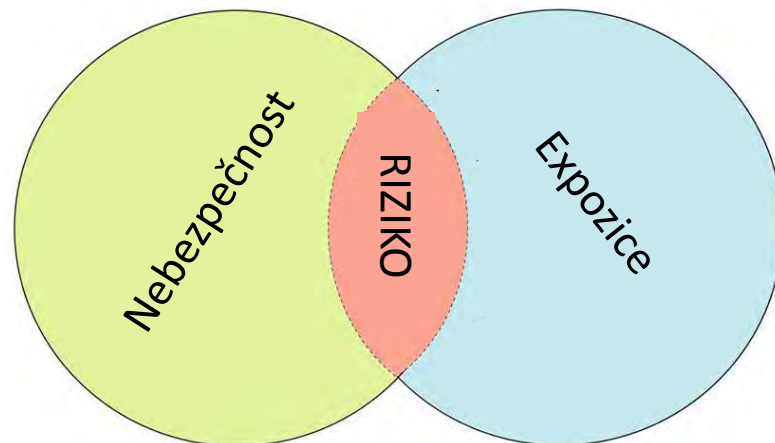




Hodnocení rizik – základní pojmy a principy

RIZIKO

- **Kombinace** pravděpodobnosti **výskytu** specifikované nebezpečné události a jejich **následků**
- **Pravděpodobnost**, že se projeví nebezpečnost: $\langle 0; 1 \rangle$



Hodnocení rizika

- je postup, který využívá **syntézu všech dostupných údajů** podle současného vědeckého poznání pro určení **druhu a stupně nebezpečnosti** představovaného určitou látkou, dále pro určení, v jakém **rozsahu** byly, jsou nebo v budoucnu mohou být působení tohoto faktoru **vystaveny jednotlivé skupiny populace** a konečně **zahrnuje charakterizaci** existujících či potenciálních **rizik** vyplývajících z uvedených zjištění.



Toxický faktor



Toxicita

= typ nebezpečnosti
- vlastnost fyzikálního, chemického, biologického faktoru působit nepříznivě na zdraví



Toxický účinek

- Výsledek interakce mezi postiženým organismem a toxickým faktorem





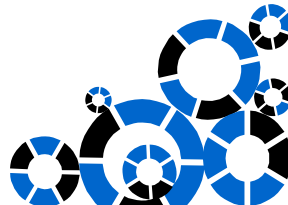
Nebezpečnost

RIZIKO

Expozice



Zranitelnost





Manuály hodnocení zdravotních rizik

USA

- **Risk Assessment Guidance for Superfund**, Part A. (US EPA, 1989, aktualizace 2009)

EU

- **Nařízení REACH** (Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH))

ČR

- **Manuál prevence v lékařské praxi** díl VIII. Základy hodnocení zdravotních. SZÚ, Praha, 2000.
- <http://www.szu.cz/uploads/documents/czsp/manual/Manual%20souhrn-7.pdf>
- **Metodický pokyn MŽP pro analýzu rizik kontaminovaného území** – Příloha č. 4 Principy hodnocení zdravotních rizik, Věstník MŽP, 2005



Základní koncept hodnocení rizik chemických látek dle NRC (NRC 1983)

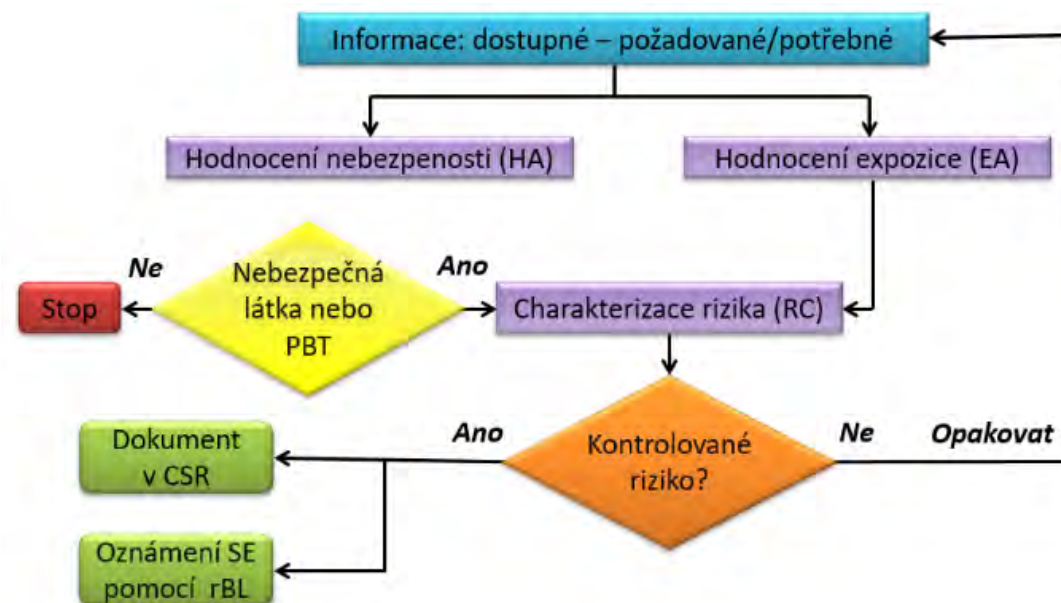


Schéma procesu posouzení rizik dle nařízení REACH

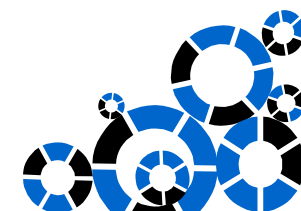
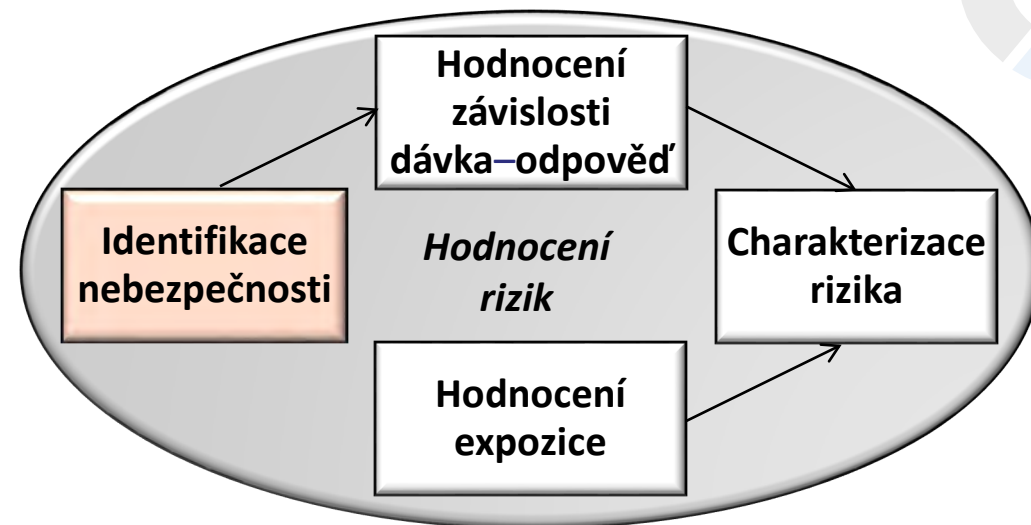
(PBT – Persistentní, bioakumulativní a toxické, CSR – Zpráva o chemické bezpečnosti; rBL – Rozšířený bezpečnostní list, SE – Scénář expozice)



Identifikace nebezpečnosti



- Posoudit, zda chemická látka může být **nebezpečná** a za jakých okolností
- Zahrnuje **sběr a vyhodnocení dat** o možných typech poškození zdraví, které mohou být vyvolány danou látkou a o podmínkách expozice, za kterých k těmto poškozením dochází
- Posoudit závažnost důkazů o nežádoucích účincích studovaného faktoru u člověka na základě dostupných údajů o jeho působení





Nebezpečnost → Nebezpečná látka



- Vykazuje jednu nebo více **nebezpečných vlastností** klasifikovaných podle zvláštního předpisu
- Klasifikace nebezpečných látek podle nebezpečných vlastností (zákon 350/2011 Sb., o chemických látkách a přípravcích)

- výbušné
- oxidující
- extrémně hořlavé
- vysoce hořlavé
- hořlavé

Fyzikálně-chemické
vlastnosti

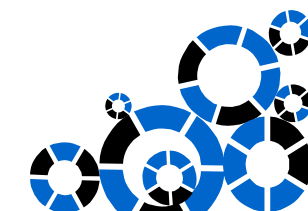


- vysoce toxické
- toxické
- zdraví škodlivé
- žíravé
- dráždivé,
- senzibilující
- karcinogenní
- mutagenní
- toxické pro reprodukci

Toxikologické vlastnosti

➤ nebezpečné pro životní
prostředí

Ekotoxikologické
vlastnosti



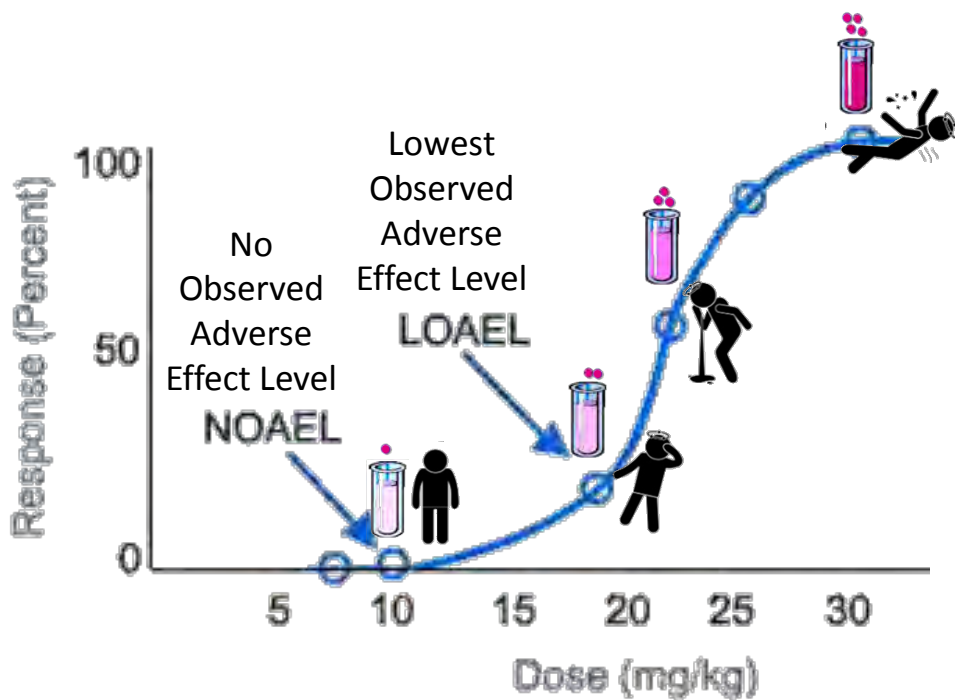
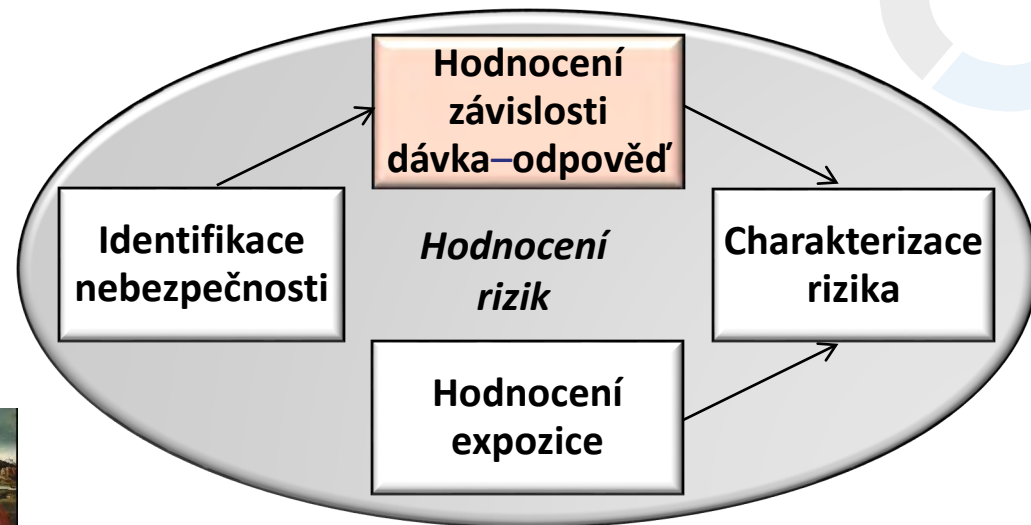


Hodnocení závislosti dávka–odpověď



- Kvantitativně vyjádřit **vztah mezi dávkou** dané škodliviny a **mírou** jejího **účinku** (rozsah/četnost výskytu škodlivého účinku)
- Závislost dávka–odpověď odhadována na základě *in vivo* **experimentů** a **epidemiologických studií**

VŠECHNY látky jsou toxické za „správných“ podmínek



DÁVKA

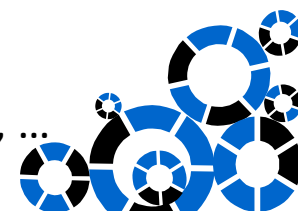
- **Množství látky** vstupující do organismu během expozice vztahené na jednotku tělesné **hmotnosti** a jednotku **času**
- Př. mg/kg/den

ODPOVĚĎ

- Měřitelná **míra účinku**
- Př. změna aktivity enzymu

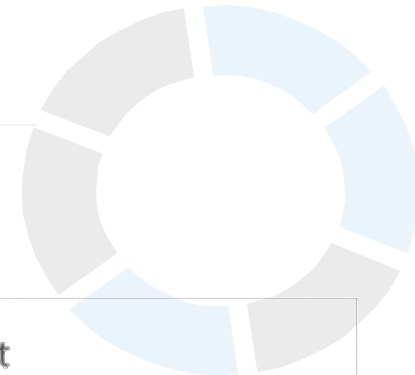
ÚČINEK

- **Kvalitativní** pojem
- Př. Hepatotoxický, neurotoxický, karcinogenní, žíravý, ...

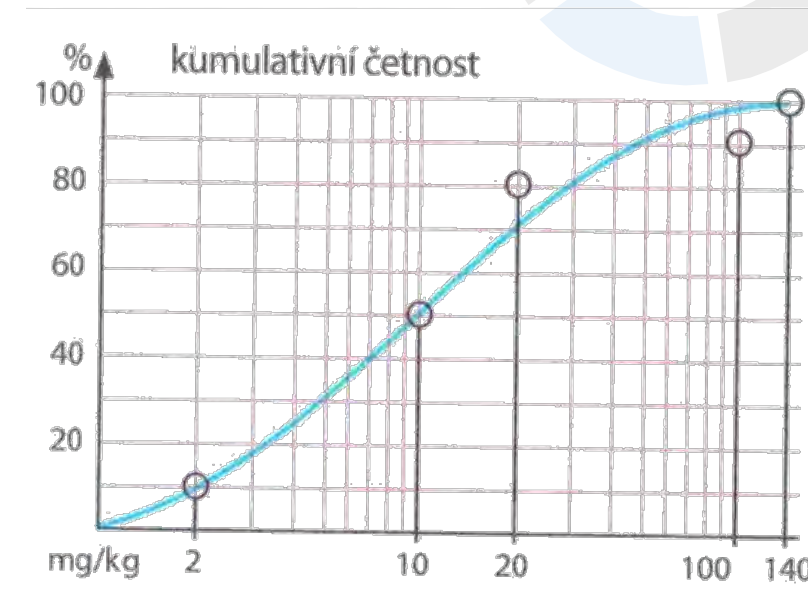
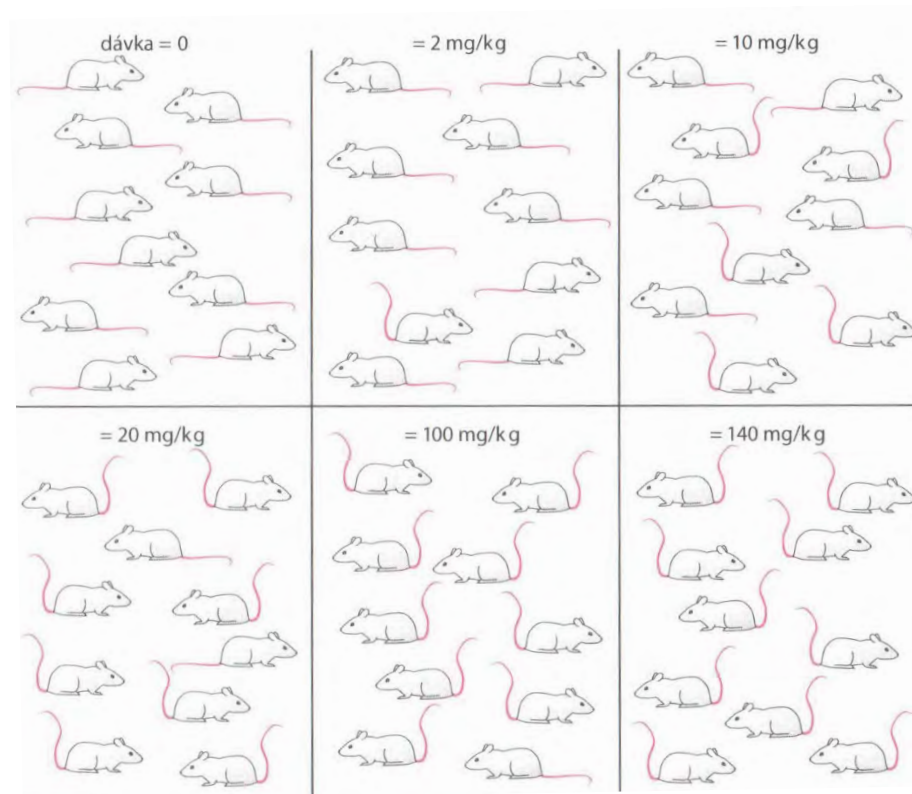
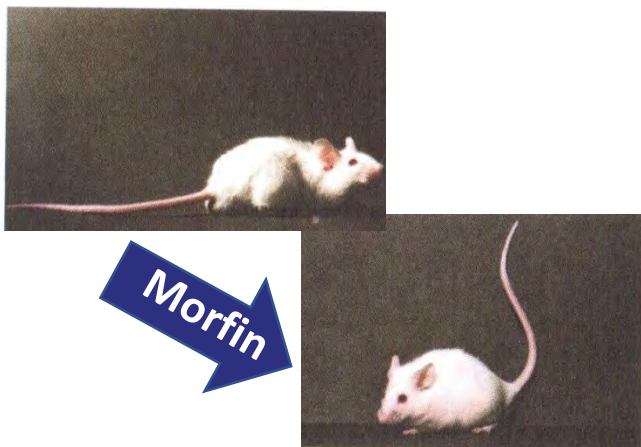




Odvození deskriptorů dávky



Straubův fenomén

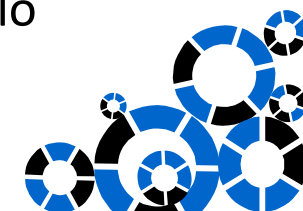


NOAEL

- **No Observed Adverse Effect Level**
- **Poslední** experimentální dávka, při které **ještě ne**bylo možné pozorovat toxický účinek látky

LOAEL

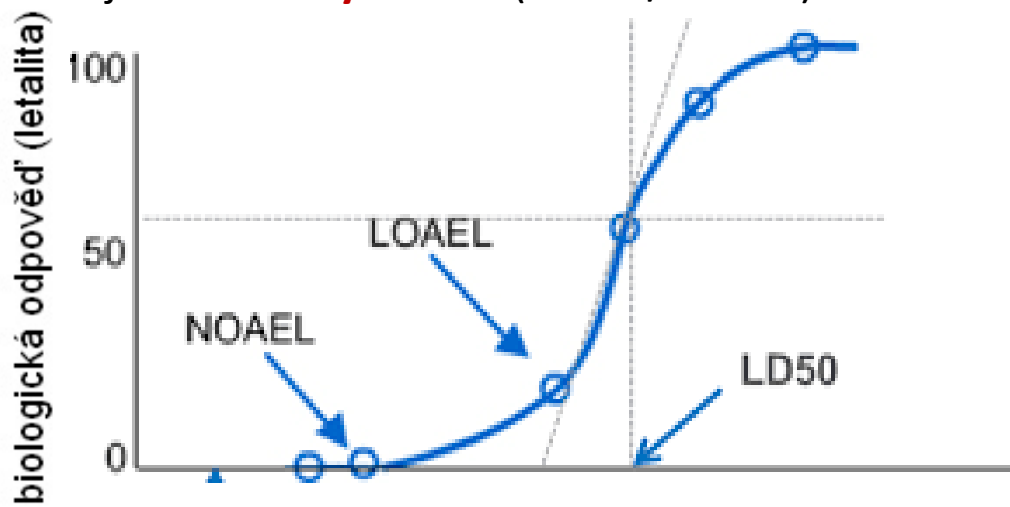
- **Lowest Observed Adverse Effect Level**
- **První** experimentální dávka, při které **již** bylo možné pozorovat toxický účinek látky





PRAHOVÉ ÚČINKY

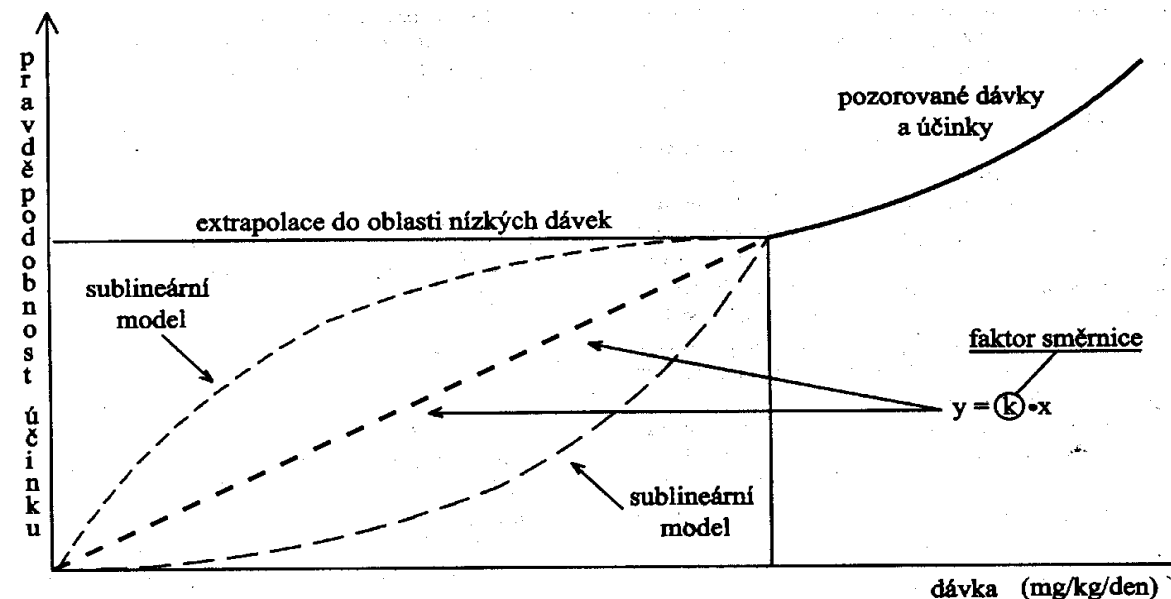
- **Deterministické účinky**
- **Jiný** toxický účinek **než karcinogenní** (akutně toxické účinky, žíravé, dráždivé účinky, senzibilizace kůže, i epigenetické karcinogeny)
- Toxické účinky se projeví až **po vyčerpání obranných mechanismů**
- **Prahová dávka** - míra expozice, která je pro organismus bezpečná
- Cílem hodnocení rizik je odhadnout maximální prahovou hodnotu, zajišťující ochranu i citlivých jedinců v populaci
- Zjišťujeme **kritický účinek** (LOAEL/NOAEL)



2 typy účinků

BEZPRAHOVÉ ÚČINKY

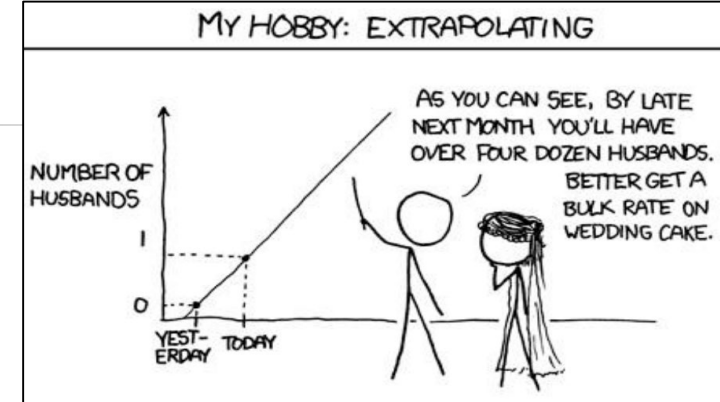
- **Stochastické účinky**
- **Genotoxický účinek** (mutagenní, karcinogenní), alergenní účinek
- Experimentálně **nelze stanovit bezpečnou dávku** (práh účinku)
- Rostoucí dávka a každá expozice **zvyšují pravděpodobnost**, že k **účinku** dojde (ne závažnost) - předpokládán lineární vztah mezi dávkou a účinkem
- Stanovení **příjemné míry rizika** (obvykle 1:10⁻⁶)



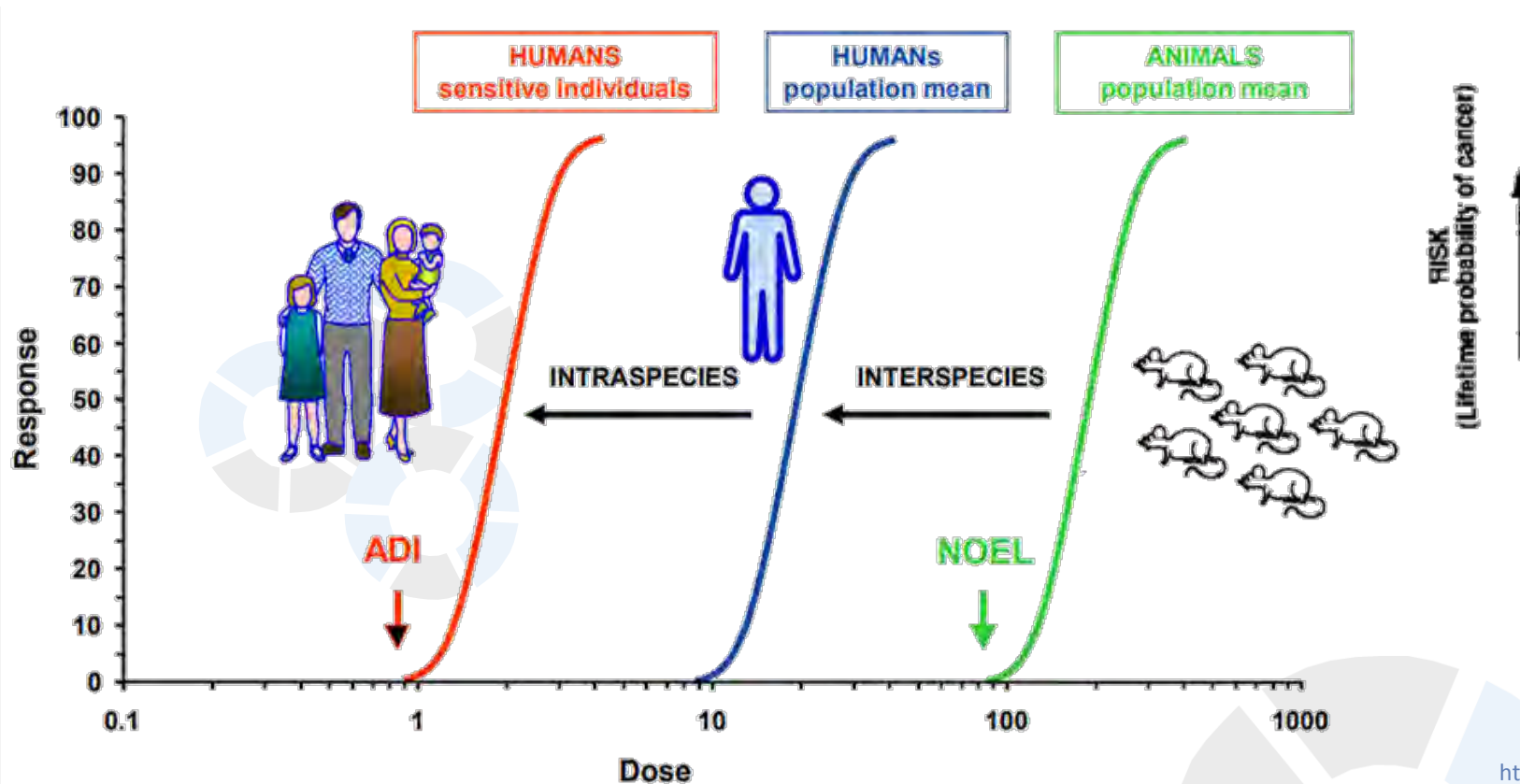


Extrapolace

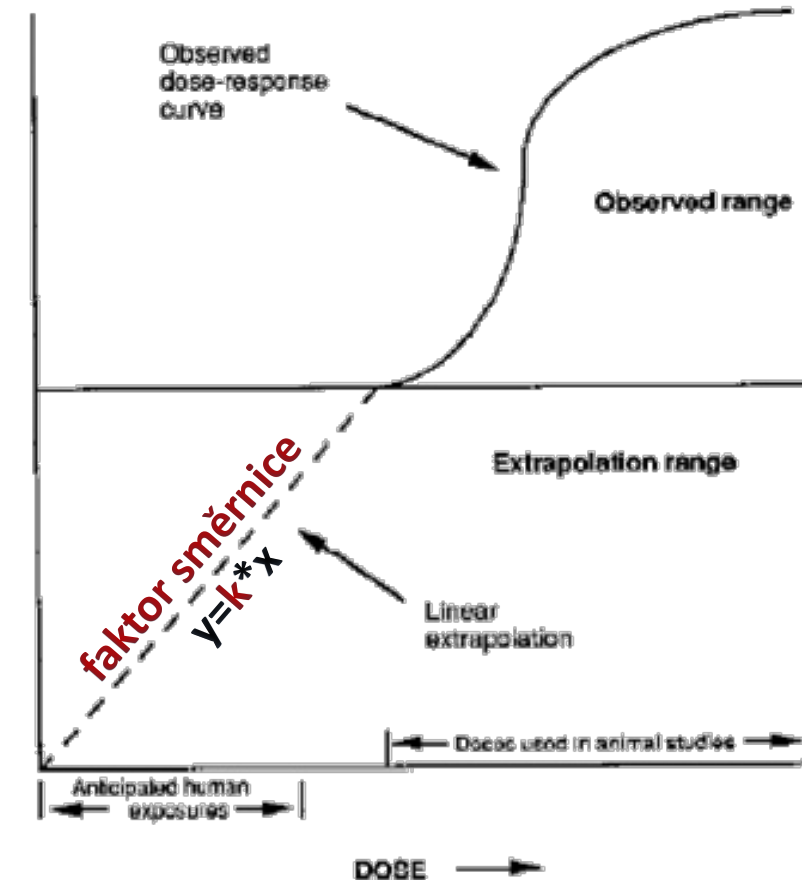
- Odvození maximálního množství látky, kterému může být jedinec vystavený za specifické časové období
- Klasický postup - odvození z **deskriptorů dávky** z in vivo studií (LOAEL, NOAEL) za použití **modifikačních faktorů a faktorů nejistoty** (10x10)



PRAHOVÉ ÚČINKY



BEPRAHOVÉ ÚČINKY





Odvození limitní (bezpečné) dávky



$$\text{ADI} = \text{NOAEL}/\text{SF}$$

$$\text{RfD} = \text{NOAEL}/(\text{UF} * \text{MF})$$

ADI...Akceptovatelný denní příjem (*Acceptable daily intake*)

RfD....Referenční dávka (*Reference dose*)

SF.... Bezpečnostní faktor (*Safety factor*)

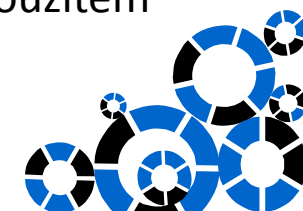
- SF = cca 100

UFFaktor nejistoty (*Uncertainty factor*)

- $\text{UF} = \text{UF}_1 * \text{UF}_2 \dots * \text{UF}_n$
- UF_1 – extrapolace z NOAEL pro pokusné **zvíře** na NOAEL pro člověka (UF = 10)
- UF_2 – popisuje **variabilitu** mezi lidmi (UF = 10)
- UF_3 – převod **subchronické** expozice na chronickou (UF = 10)
- UF_4 – převod **LOAEL** na NOAEL (UF = 10)

MFModifikační faktor (*Modifying factor*)

- popisuje vědeckou nejistotu (kvalita publikací v závislosti na designu studií, statistickém vyhodnocení, použitém rozsahu a počtu dávek, ...)
- MF = (0;10)

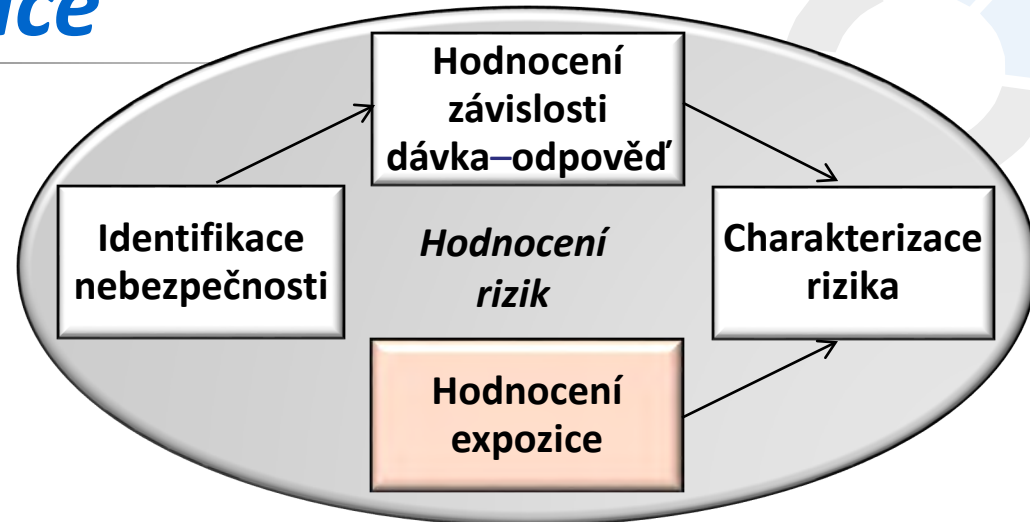




Hodnocení expozice



- **Expozice = kontakt** chemického, fyzikálního nebo biologického faktoru s vnější hranicí organismu
- Proces měření nebo odhadování **velikosti, frekvence a trvání expozice** člověka
- Odhad **velikosti, povahy a typu populace**, která je dané látce vystavena
- Identifikace **nejcitlivější podskupiny** - zvýšená expozice nebo zvýšená zranitelnost
- **Expoziční scénář** - popisuje, jakými **cestami**, v jaké **intenzitě** a **množství** je konkrétní populace exponovaná dané škodlivině

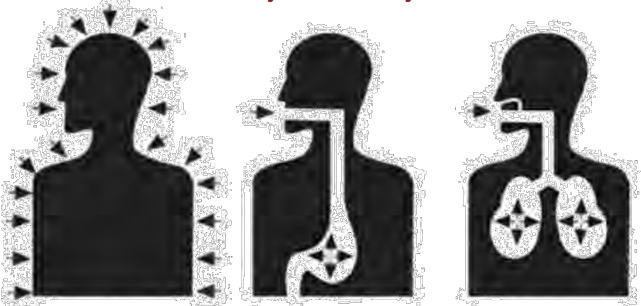


Časové rozložení expozice



Nejvýznamnější cesty expozice

- **Dermální, orální, inhalační**



Doba trvání expozice



Četnost expozice





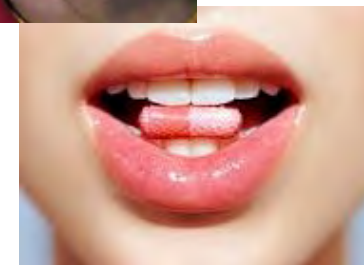
Odhad expozice

- Za předpokladu konstantní koncentrace škodliviny v médiu po dobu expozice, lze **množství přijaté škodliviny** odhadnou podle následující **rovnice**:

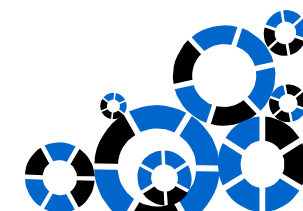
$$CDI = \frac{C \times IR \times B \times ET \times EF \times ED}{BW \times AT}$$

← Obecný tvar rovnice

- **CDI..... Průměrný denní příjem** (Chronic Daily Intake) [mg.kg⁻¹.den⁻¹]
- **C..... Maximální koncentrace** látky ve sledovaném médiu [mg.m⁻³]
- **IR..... Míra kontaktu** s kontaminovaným médiem [m³.hod⁻¹]
- **B..... Biologická dostupnost** látky ze sledovaného média [0 – 100 %]
- **ET..... Expoziční čas** [hod.den⁻¹], hodnota specifická pro danou expoziční cestu
- **EF..... Frekvence** expozice [den.rok⁻¹]
- **ED..... Doba trvání** expozice [roky]
- **BW..... Průměrná tělesná hmotnost** jedince po dobu expozice [kg]
- **AT..... Přepočítání na časovou jednotku** - doba, po kterou je průměrná koncentrace považována za konstantní, tj. doba, ke které je expozice průměrována [den]



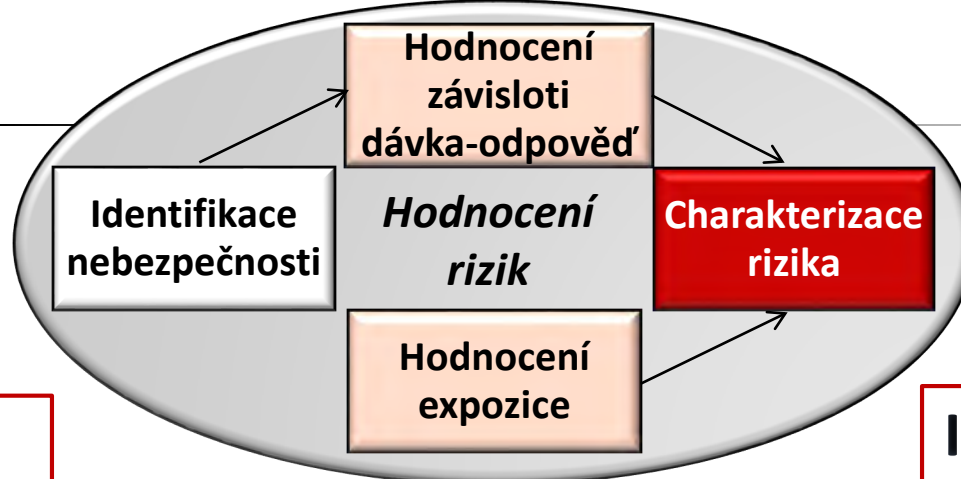
- Celková expozice rovna **součtu** expozic dané látky jednotlivými **expozičními cestami**





Látky
s prahovým
účinkem

$$HI = CDI / RfD$$



Látky
s bezprahovým
účinkem

$$ILCR = CSF \cdot LCDI$$

Pro rizika do P 1:100

$$ILCR = 1 - e^{-(CSF \cdot LCDI)}$$

Pro rizika s vyšší P



- **HI**.....**Index nebezpečnosti** (*Hazard Index*)
- **CDI**.....**Chronický denní příjem** (*Chronical Daily Intake*) (dávka) [mg.kg⁻¹.den⁻¹]
- **RfD**.....**Referenční dávka** (*Reference Dose*)

- HI < 1: exponovaná populace **není ohrožena**



Předpokládána expozice natolik nízká, že s sebou s nejvyšší pravděpodobností nenese žádná zdravotní rizika

- HI > 1: exponovaná populace může být **ohrožena**



Nutno zjistit další informace a zahájit vhodná nápravná **opatření**

- **Přidatné individuální karcinogenní riziko**
- **Zvýšení pravděpodobnosti** individuálního vzniku rakoviny během celého života v důsledku expozice potencionálnímu karcinogenu
- **ILCR**.....**celoživotní vzestup pravděpodobnosti vzniku nádorových onemocnění** (*Incremental Lifetime Cancer Risk*), tj. teoretický počet statisticky předpokládaných případů nádorového onemocnění na počet exponovaných jedinců
- **CSF**..... **Faktor směrnice** karcinogenního rizika – (*Carcinogenic Slope Factor*) [mg.kg⁻¹.den]
- **LCDI**.....**Celoživotní průměrný denní příjem** (*Lifetime Chronic Daily Intake*) vztaženou na celoživotní expozici v délce 70 let [mg.kg⁻¹.den⁻¹]



Přijatelnost rizika

Jaké je riziko smrtelné nehody spojené s řízením auta v ČR?

- Celkový počet nehod v ČR v roce 2019 107 572
- Počet usmrcených v ČR v roce 2019 547
- Počet obyvatel v ČR v roce 2019 10 690 000

- **Sociální riziko**

= 547 úmrtí/rok

- **Individuální riziko**

= 547 úmrtí/rok / 10,69 mil. lidí = $5,1 \times 10^{-5}$ úmrtí/člověk*rok

- **Celoživotní riziko**

= $5,1 \times 10^{-4}$ úmrtí/člověk*rok \times 70 let = $7,7 \times 10^{-3}$ úmrtí/člověk*život

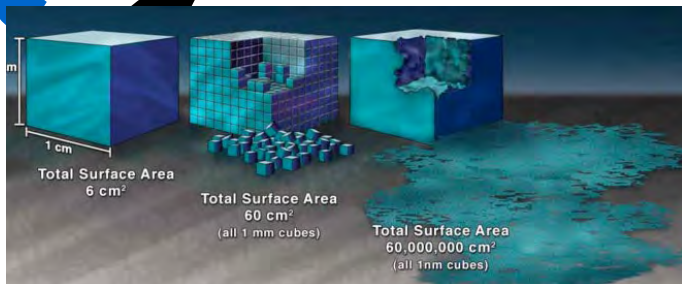
Celoživotní riziko **úmrtí na autonehodu** je **1 ze 280**
Regulace chemikálií pracuje na hladině 1 z 1 000 000

Příklady lidských aktivit s rizikem úmrtí 1:1 000 000

Činnost	Rozsah činnosti	Příčina smrti
Kouření	1-4 cigarety	Karcinom, CVD
Jízda na kole	16 km	Nehoda
Jízda autem	480 km	Nehoda
Let letadlem	1600 km	Nehoda
Konzumace burských oříšků	500 g	Karcinom jater-aflatoxin
Pobyt v uhelném dole	1 hod	Zaprášení plic
Konzumace řízků grilovaných na dřevěném uhlí	100 ks	Karcinom – B(a)P
Vypítí 10 l dietní limonády	10 l	Karcinom – sacharin
RGT vyšetření plic	1 x	Karcinom – ionizující záření
Pobyt v prostoru jaderné elektrárny	5 let	Karcinom – ionizující záření



Proč jsou nanomateriály potenciálně více toxické?



<https://www.nano.gov/nanotech-101/special>

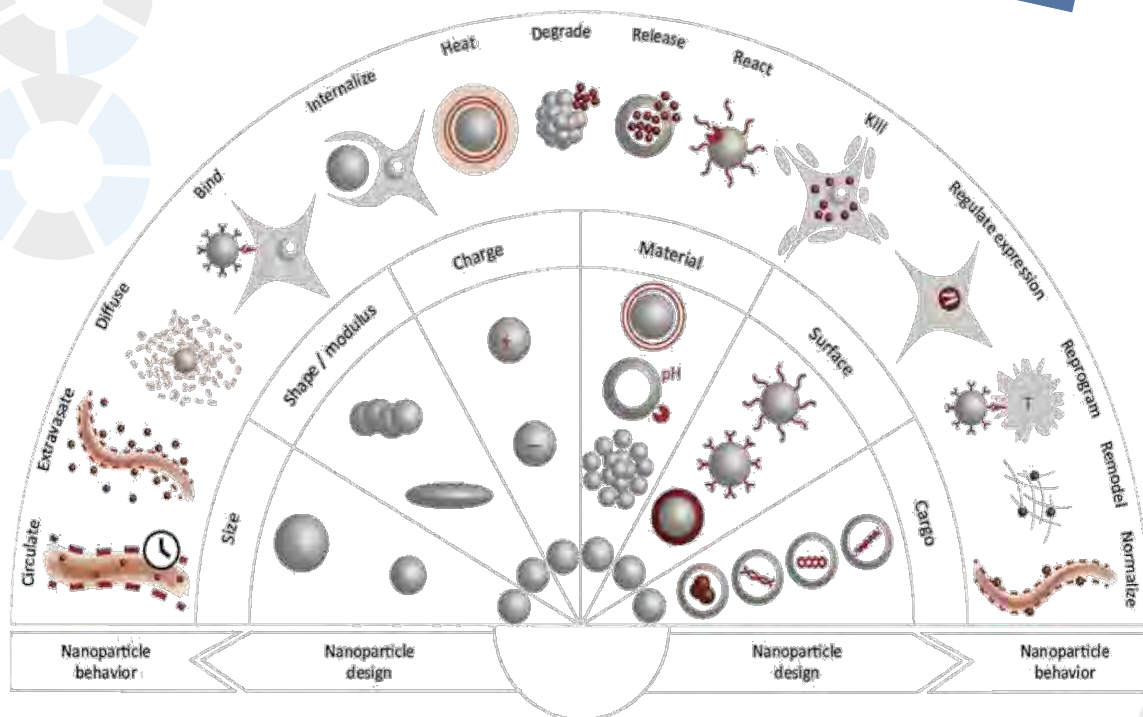
- Malá velikost
- Velká relativní plocha pobrhu
- Kvantové účinky

- Vysoká **reaktivita**
- Vysoká **adsorpční** kapacita
- Vysoká **mobilita** v biol. Prostředí
- Aktivace **imunitní odpovědi**

Potenciál pro **vysokou biologickou aktivitu**

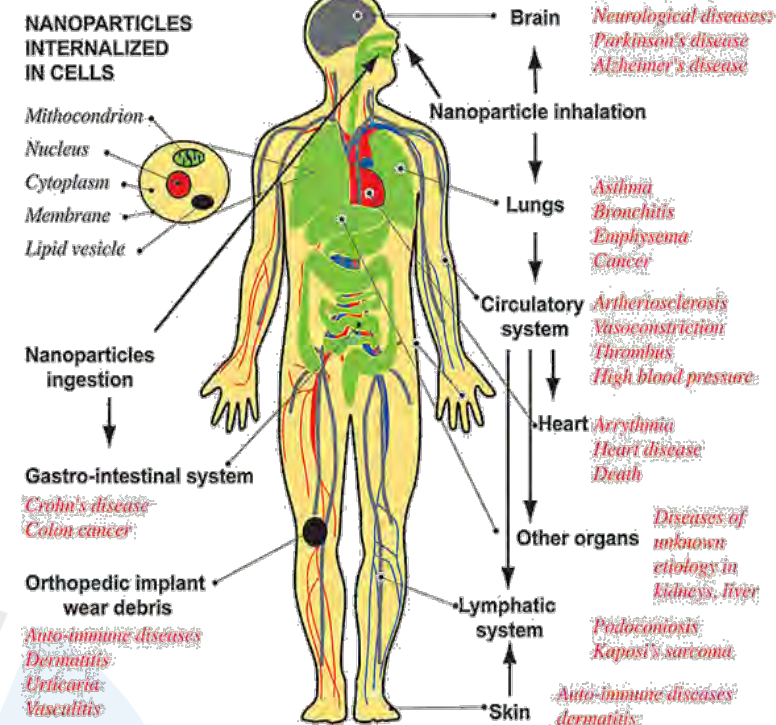
Vyšší riziko toxicity -> Nanotoxikologie

Využití v nanomedicině



<https://nanomedicine.mit.edu/nanotechnology/cancer-nanomedicine>

DISEASES ASSOCIATED TO NANOPARTICLE EXPOSURE

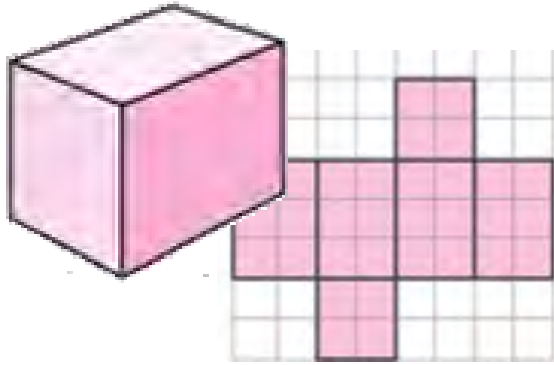


Beuza, et al., Biointerphases, 2007, 2(4), MR17-MR71.

„Dávka dělá jed“ – ale jak vyjádřit a měřit dávku u nanomateriálů?



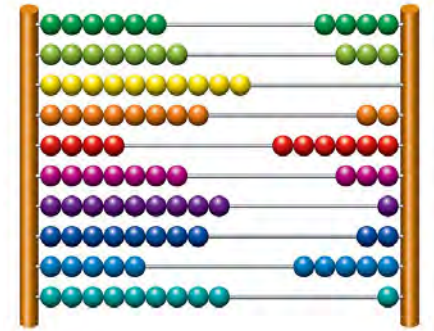
?



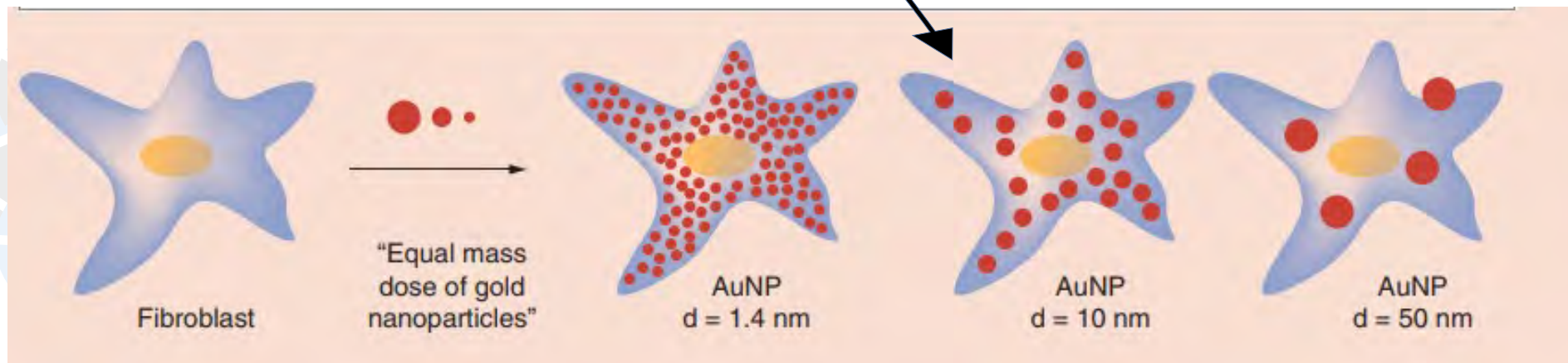
?



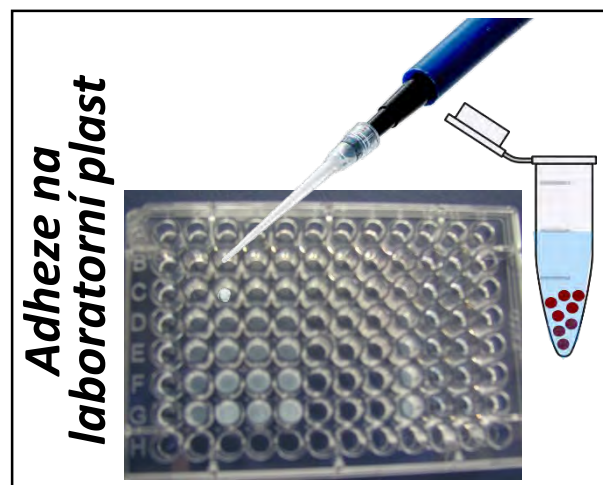
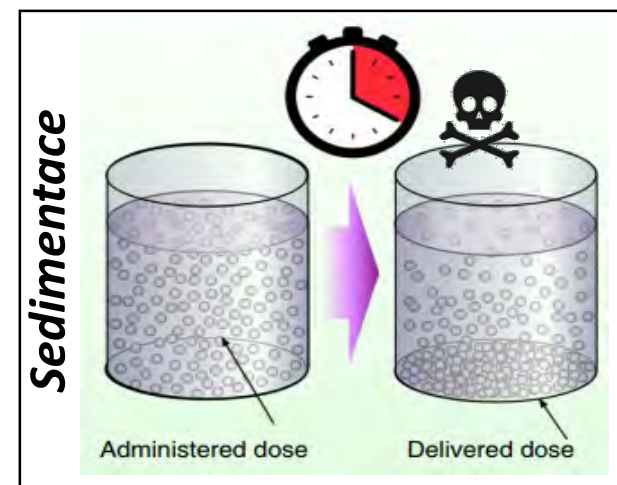
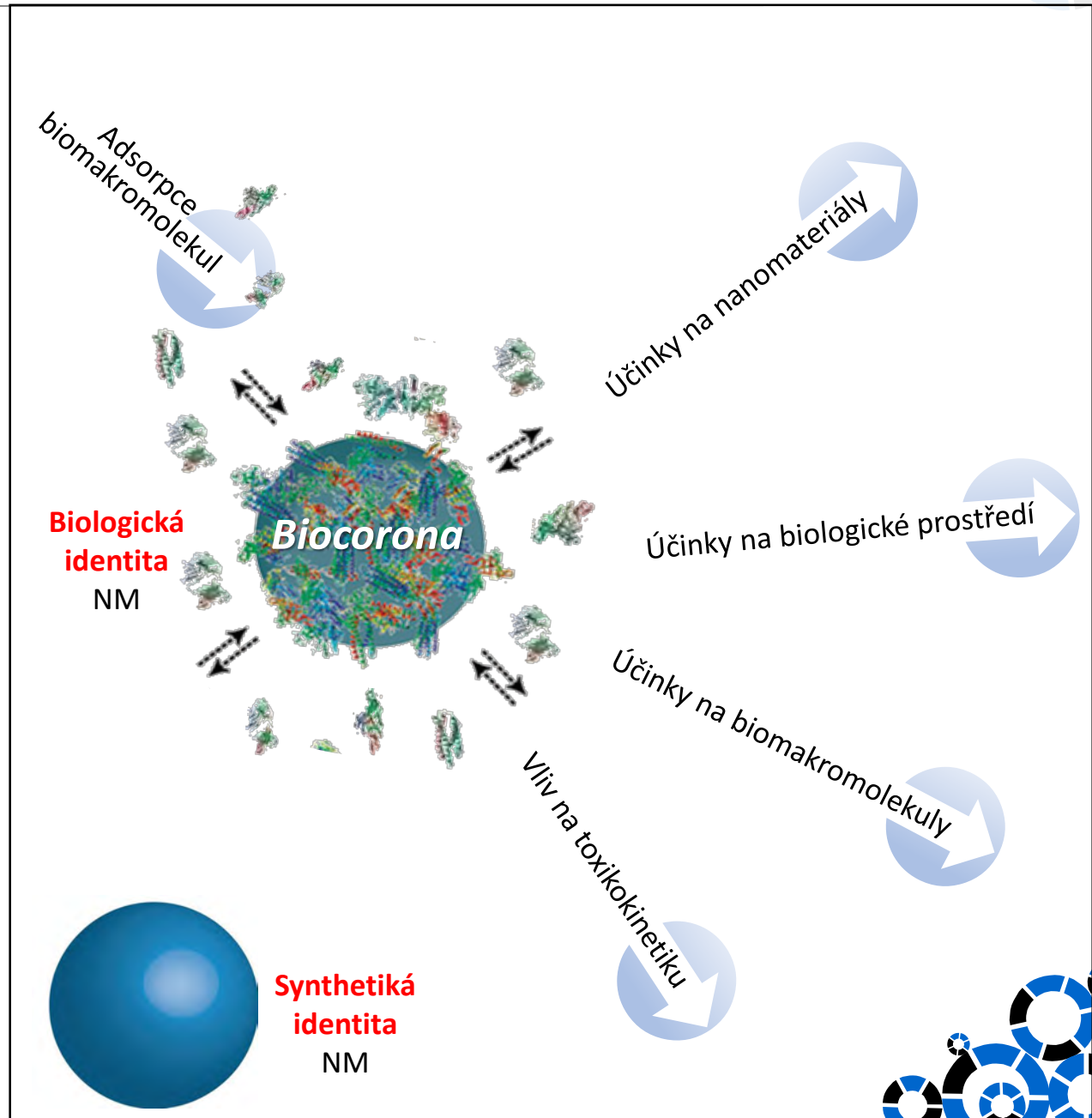
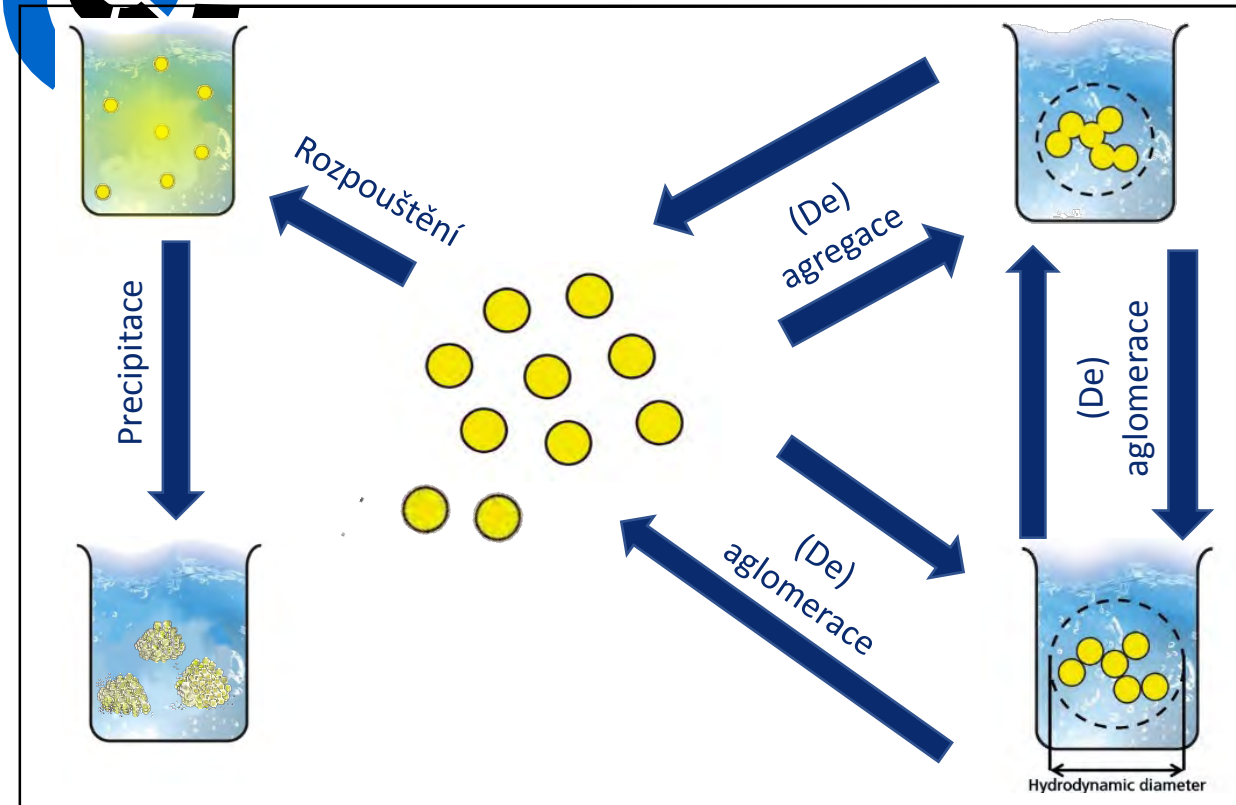
?



- Dosud **není konsensus**, jaké je nevhodnějším vyjádřením dávky v nanotoxikologii
- Dle současných poznatků se může vhodná metrika dávky **lišit v závislosti na testu** a sledovaném účinku a **vlastnostech testovaných NMs** (tvaru, velikosti, ...) (Delmaar et al. *Environmental toxicology and chemistry*, 2015, 34(5):1015-1022)
- V odborné nanotoxikologické literatuře **není vidět trend ve změně** vyjádření dávky (stále převládá hmotnostní vyjádření)
- Současné metodiky (např. OECD test **guidelines**) používají **hmotnostní vyjádření**

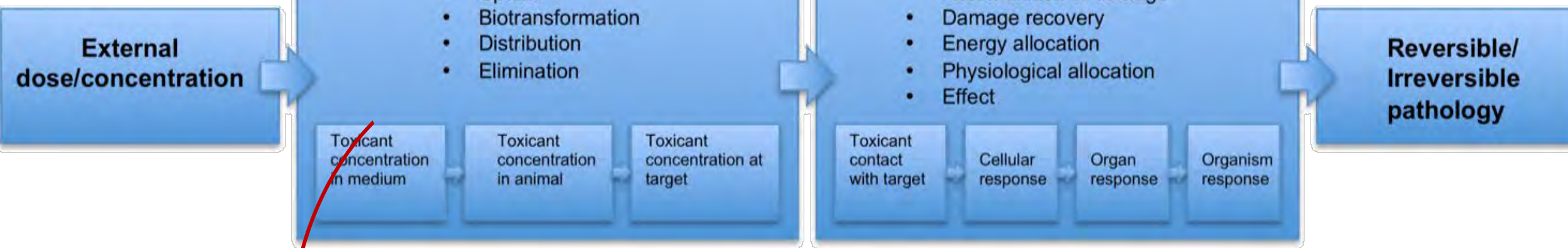


Dynamické chování nanomateriálů v toxikologických studiích

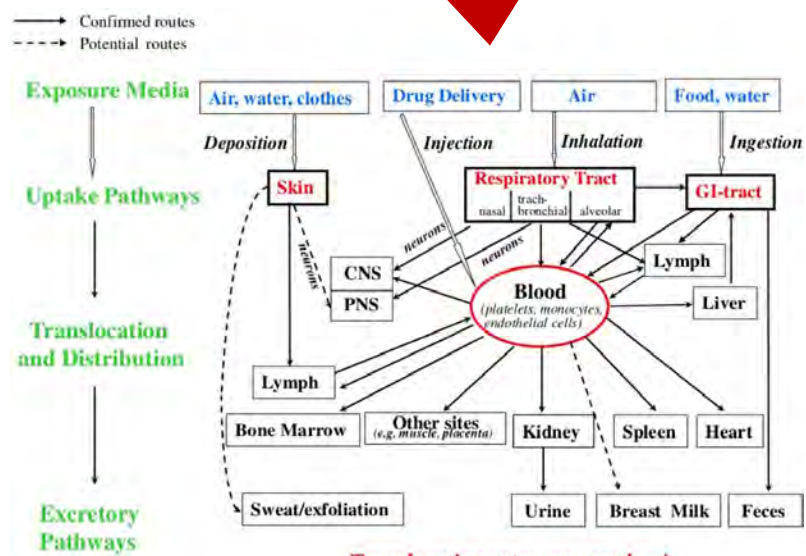




Toxikokinetika nanomateriálů

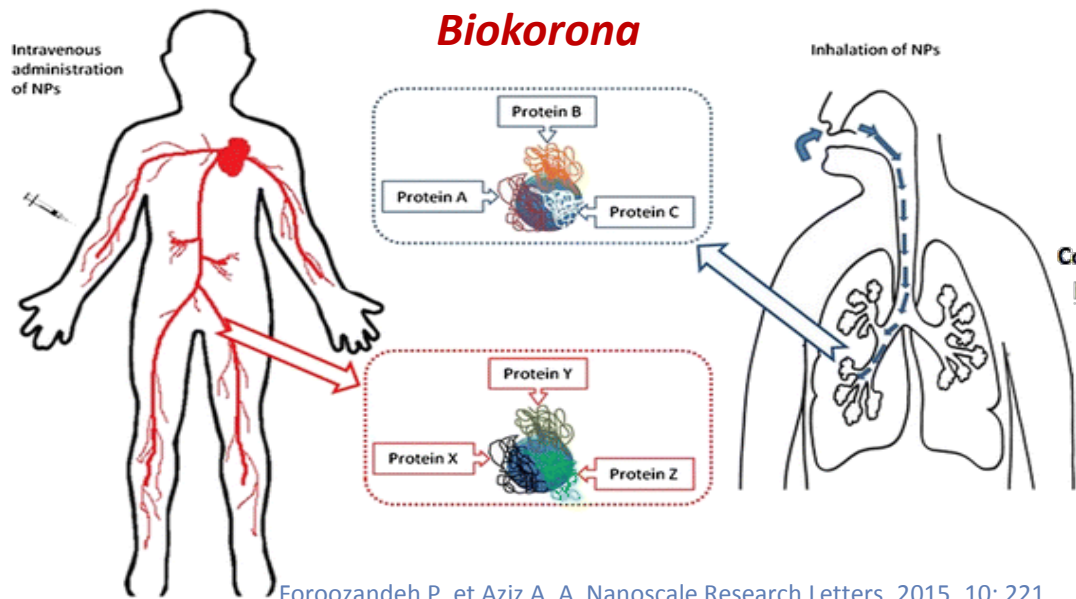


https://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/1/18/Diagram_showing_the_conceptual_pathway_of_toxicokinetics_and_toxicodynamics.png

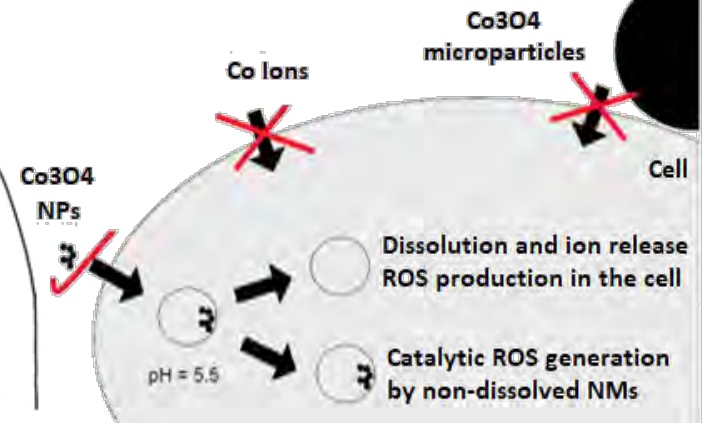


Translocation rates are very low!

Biokorona

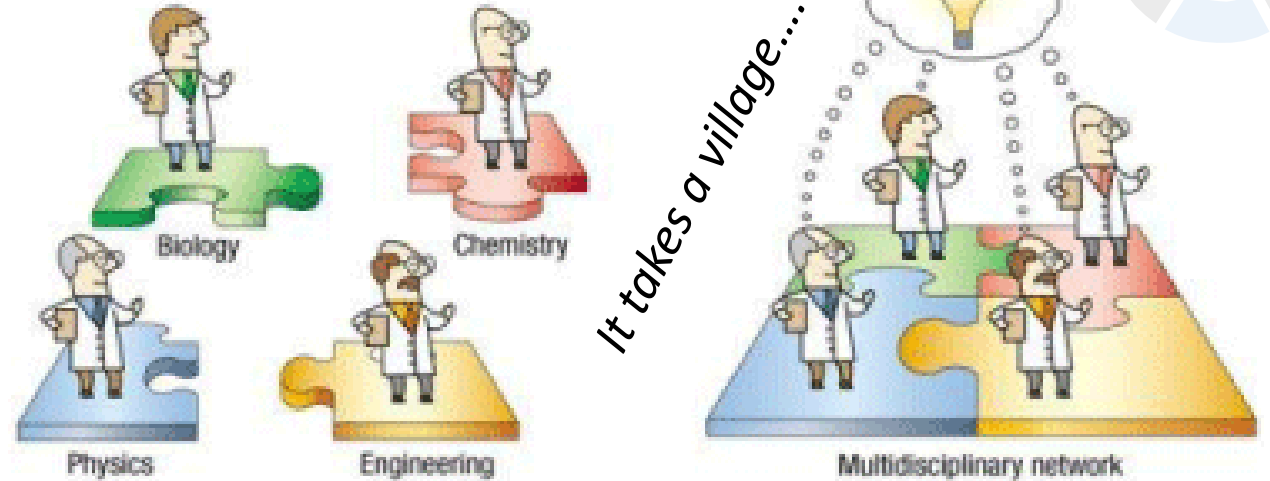
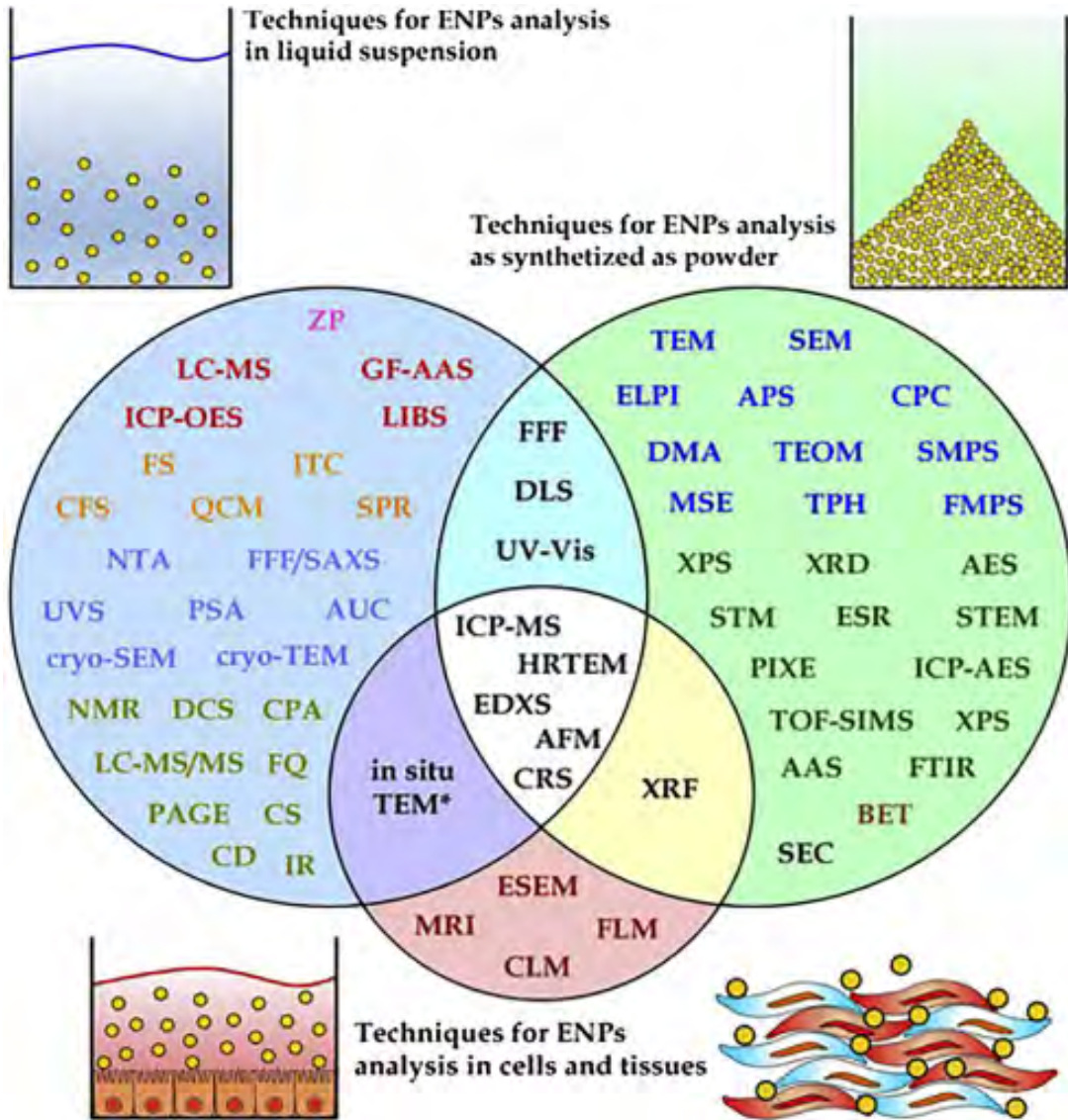


Vstup do buněk – Mechanismus Trojského koně

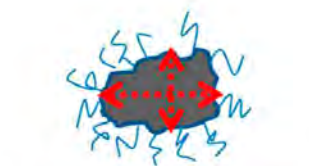




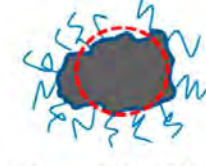
Fyzikálně-chemická charakterizace nanomateriálů



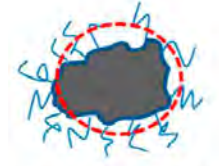
Není velikost jako velikost



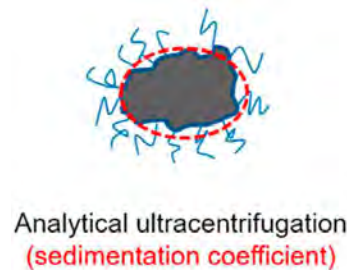
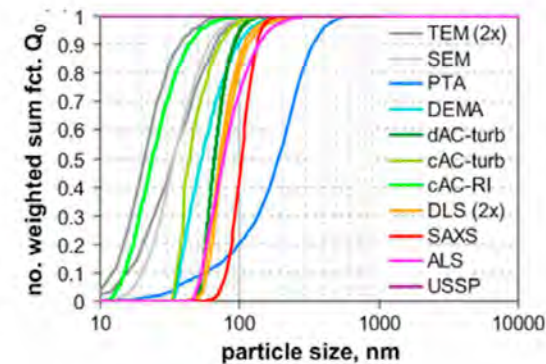
Atomic force microscopy
(height)
Electron microscopy
(width)



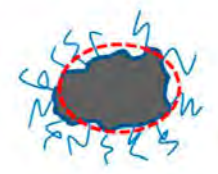
Single particle ICP-MS
(mass)



Dynamic light scattering
Fluorescence correlation spectroscopy
Nanoparticle tracking analysis
(hydrodynamic diameter)



Analytical ultracentrifugation
(sedimentation coefficient)

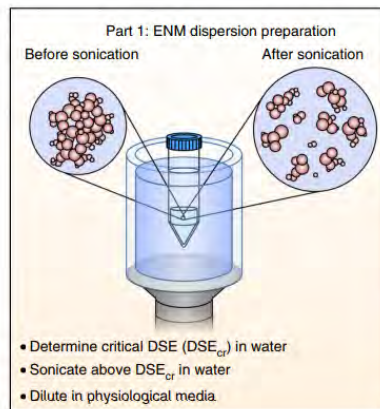
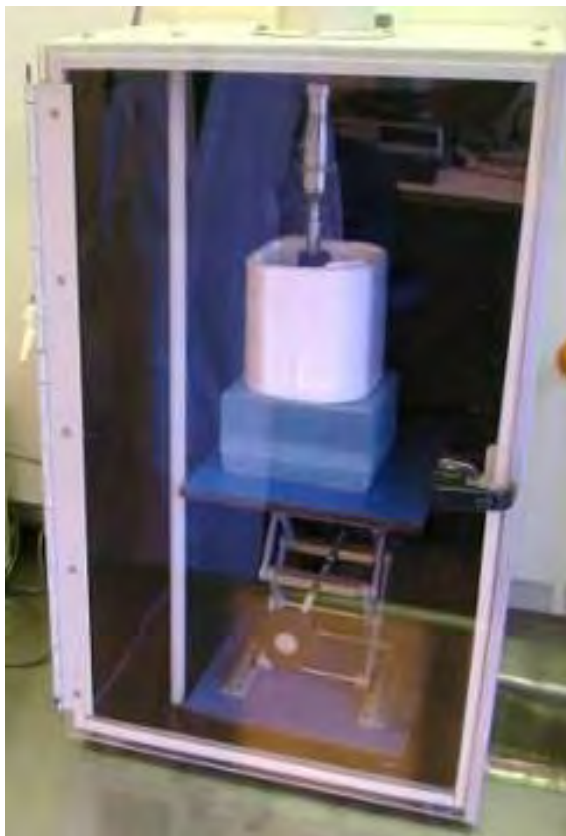


Tunable resistive pulse sensing
(volume)



Příprava vzorků nanomateriálů na testování

- **Sonikace**
- **Dispergant**
- **Standardizace** protokolu
- **Verifikace** efektivity procesu dispergace (DLS)



DeLoid. G.M. et al. Nature Protocols, 2017, 12: 355–371



Dispersion protocol for testing NMs



Příprava
roztoku
testované
chemické látky

Weight out 1 g BSA (powder) in weighing boat and pour it into the flask with 50 ml water. Dissolve weighing boat into the mixing flask and homogenize in 1000 rpm water for 10 min in 100 ml BSA suspension into the mixing flask.
100 ml BSA solution (10 mg/ml), into the mixing flask and pour 100 ml into each of 1 L.
In the next step:
Dilute 10 ml of each BSA solution for 10 minutes.





Interference & testy toxicity

NP properties:

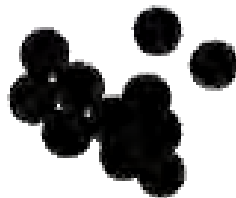
Light adsorption



Light scattering



Aggregation/ Agglomeration



Surface reactivity



Dissolution



Adsorption/Reaction with
Assay reagents Biomolecules

Problematic techniques:

**Spectrophotometry
Spectrofluorometry**

**Flow cytometry
Cell counting**

**Chemistry
Biochemistry
Immunochemistry**

**Chemistry
Biochemistry**

Problematic assays:

WST-1, MTT, NR, ³H-T, mBBR, DCF, Griess reagent...

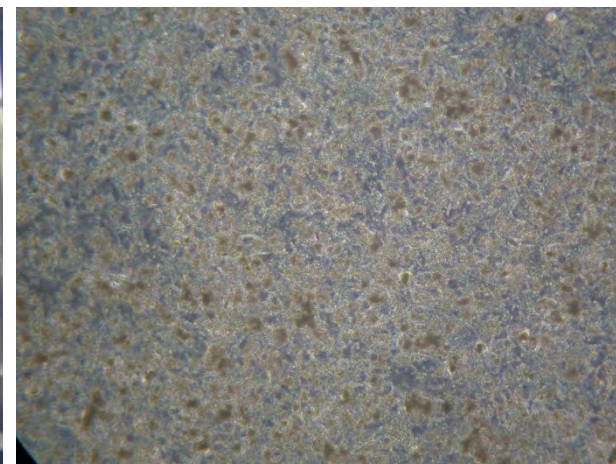
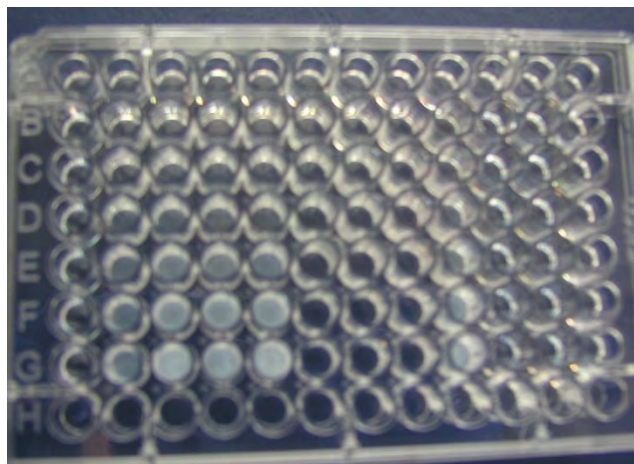
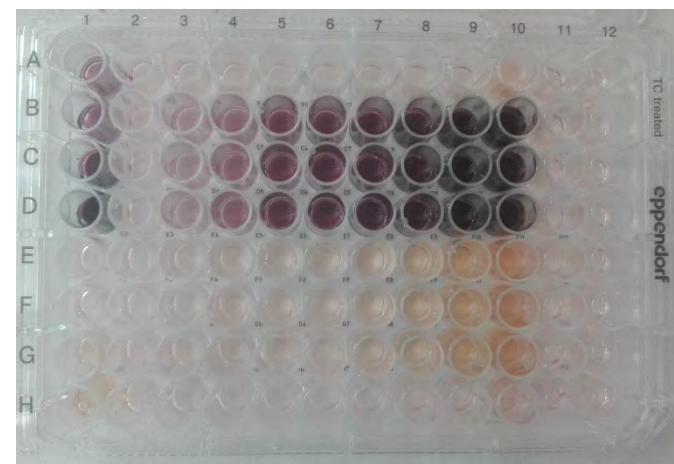
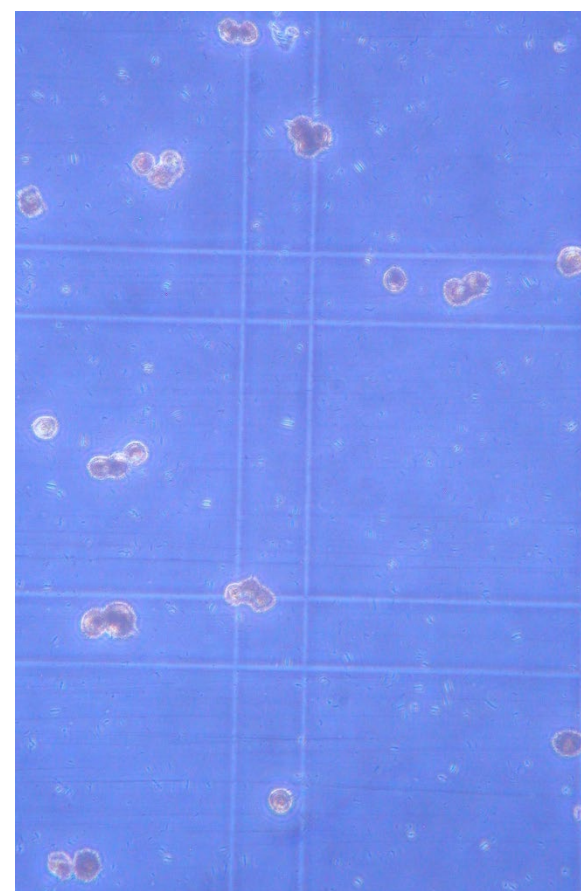
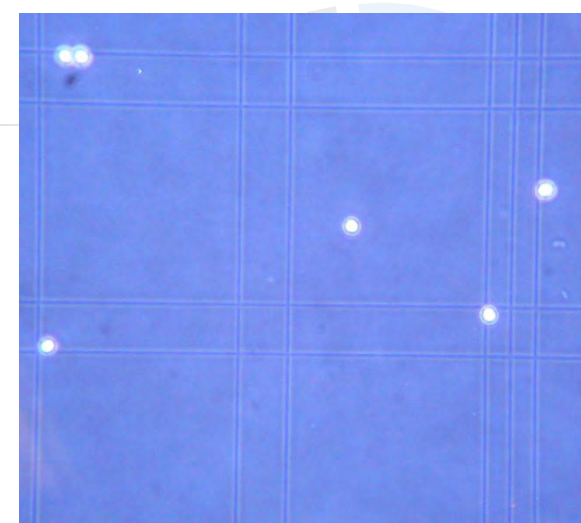
Cell proliferation, PI uptake...

MTT, ³H-T...

ELISA, LDH...

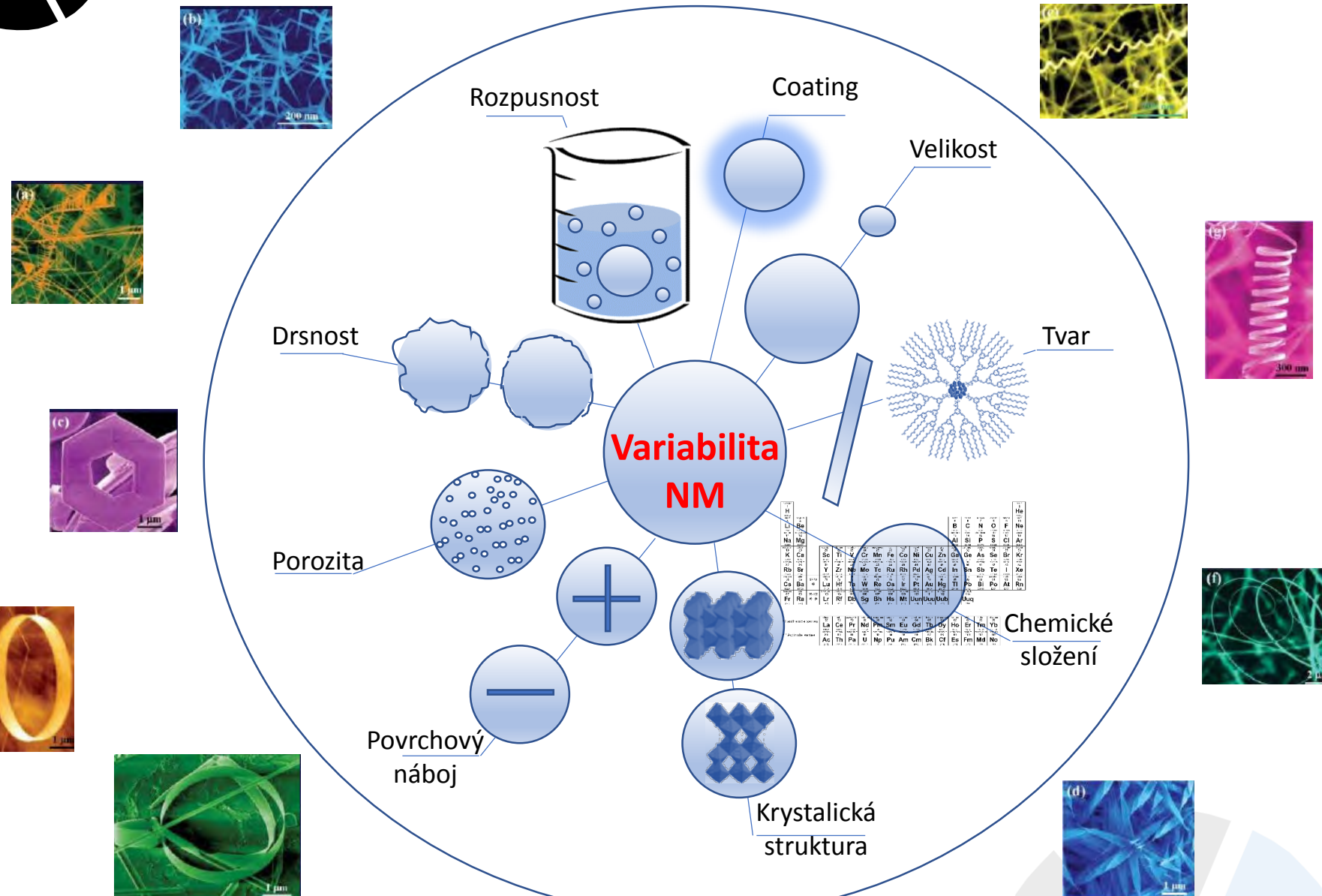
MTT, LDH...

<https://www.slideshare.net/utoxpcb/the-in-vitro-choice-m-dusinska2013>; Guadagnini et al. *Nanotoxicology*, 2015, 9(sup1): 13-24





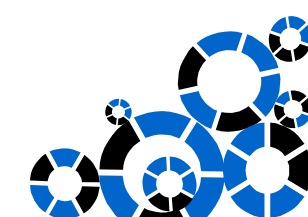
Vlastnosti nanomateriálů ovlivňující toxicitu

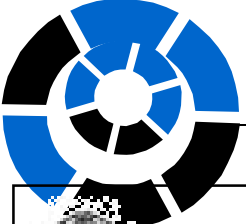


Konvenční chemické látky

H	He																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar	
K	Ca	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr		
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	Xe		
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	Rn		
Fr	Ra		Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ununseptium	Ununseptium	Ununseptium	Ununseptium	Ununseptium	Ununseptium	Ununseptium	Ununseptium		

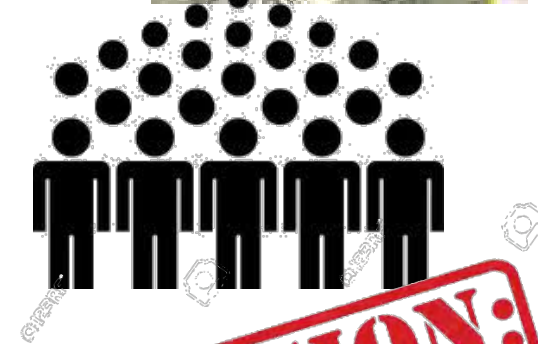
† Lanthanové prvky
** Actinoidní prvky



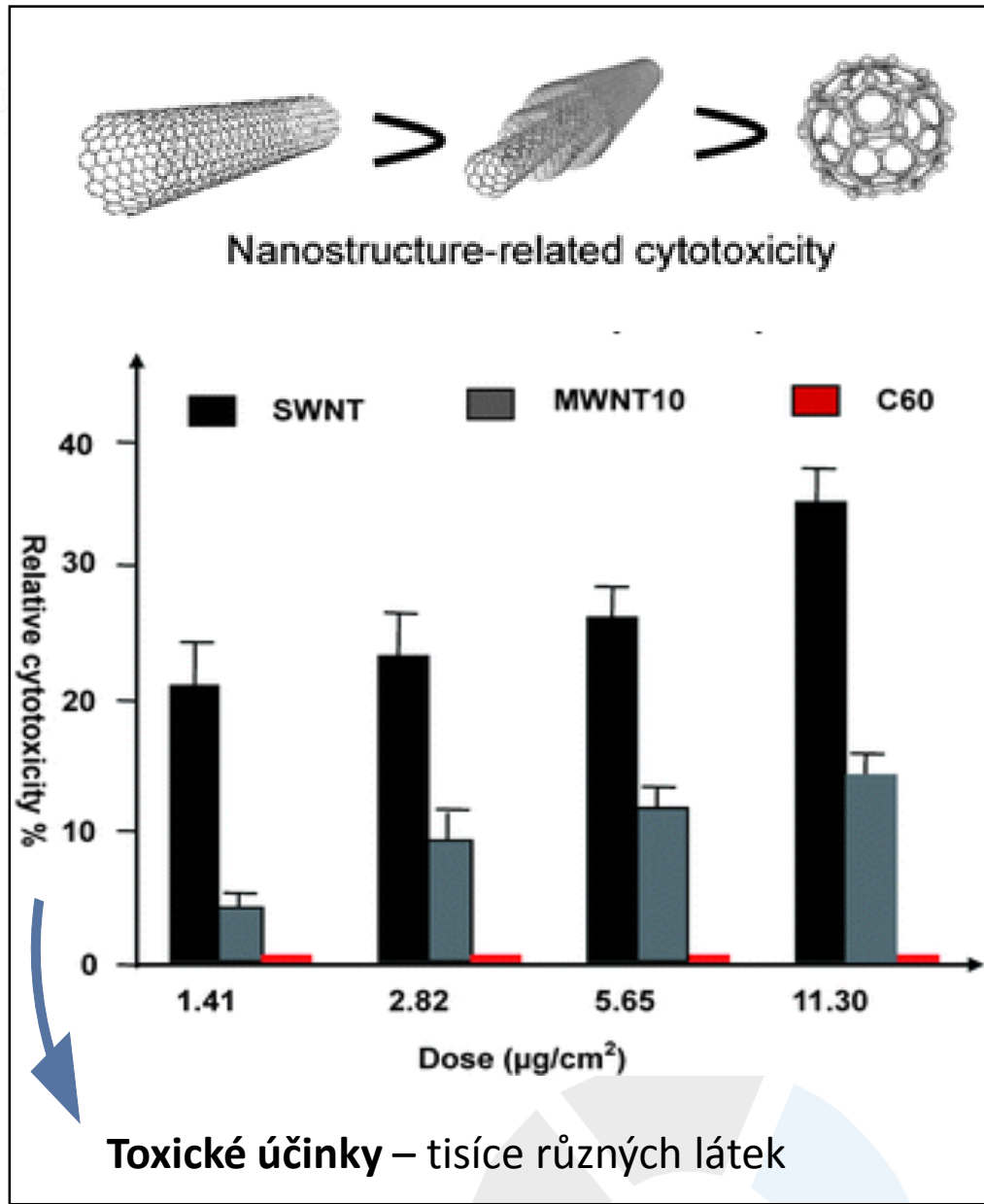
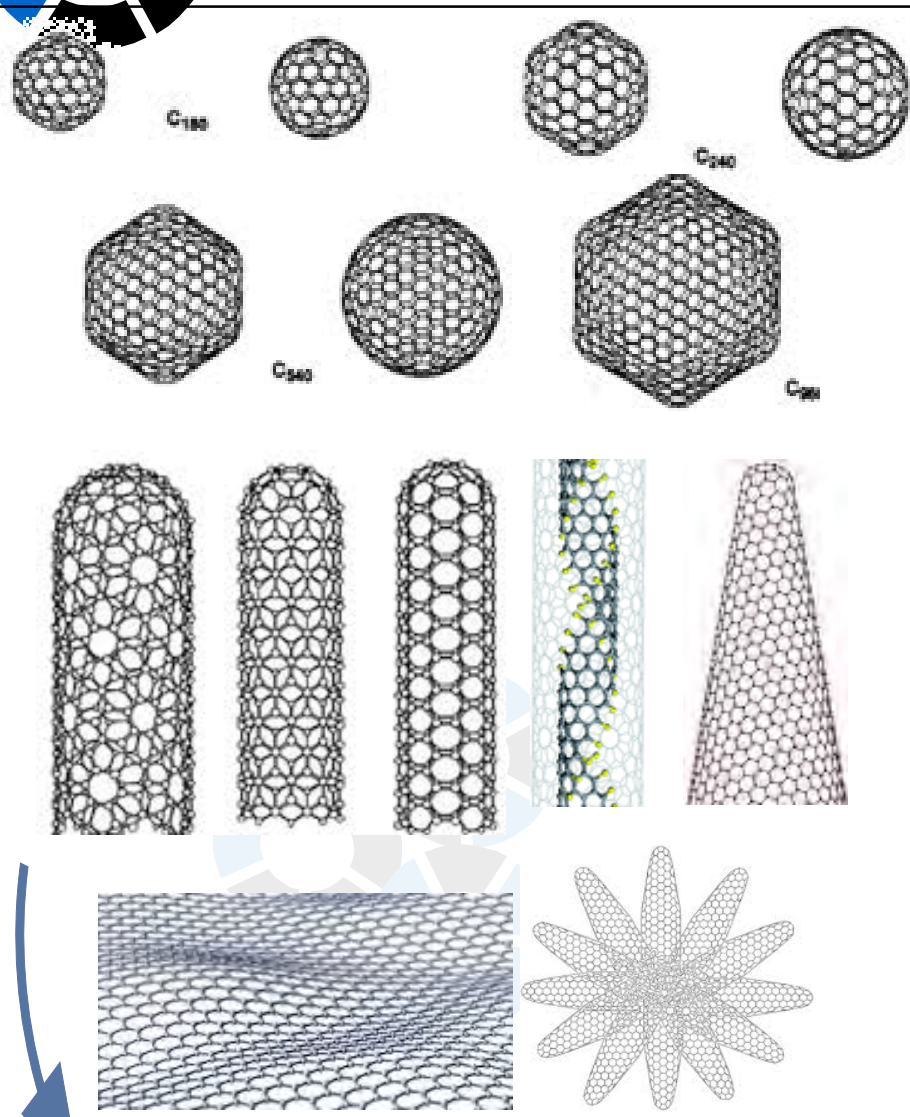


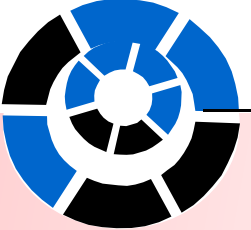
Variabilita nanomateriálů

Testovat všechny
vyráběné
nanomateriály...



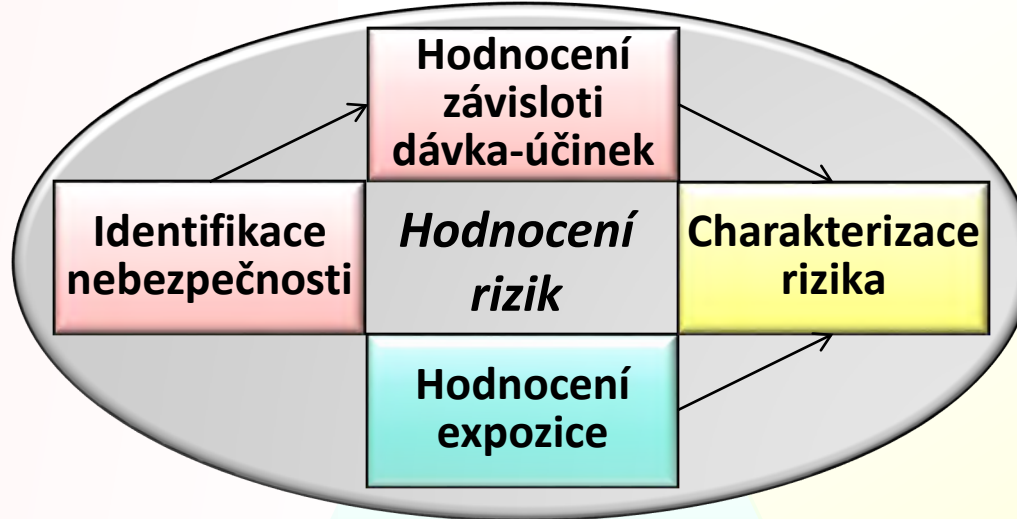
**MISSION:
IMPOSSIBLE**





Faktory komplikující použití standardních metod hodnocení rizik na NMs

- Absence jednotné definice NMs
- Variabilita NMs
- Počet vlastností podmiňujících toxicitu
- Možné specifické účinky
- Neexistující epidemiologická data
- Heterogenita NMs
- Neexistující standardní metody charakterizace NMs
- Nekonzistentnost experimentálních dat
- Nejasná dozimetrie
- Odlišná toxikokinetika
- Dynamika chování NMs v závislosti na prostředí
- *In vitro* dozimetrie
- Specifické fyzikálně-chemické vlastnosti NMs
- Odlišnost šarží
- Křivka závislosti může mít lokální maxima
- Samouspořádávání



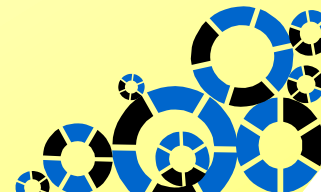
- Nejasná dozimetrie
- Chybí spolehlivé metody odlišení pozadí
- Nedostatek informací o aktuálních úrovních expozice
- Nedostupné spolehlivé personální monitory
- Nedostatek dat o expozici
- Specifické chování v prostředí



Vysoká úroveň nejistot



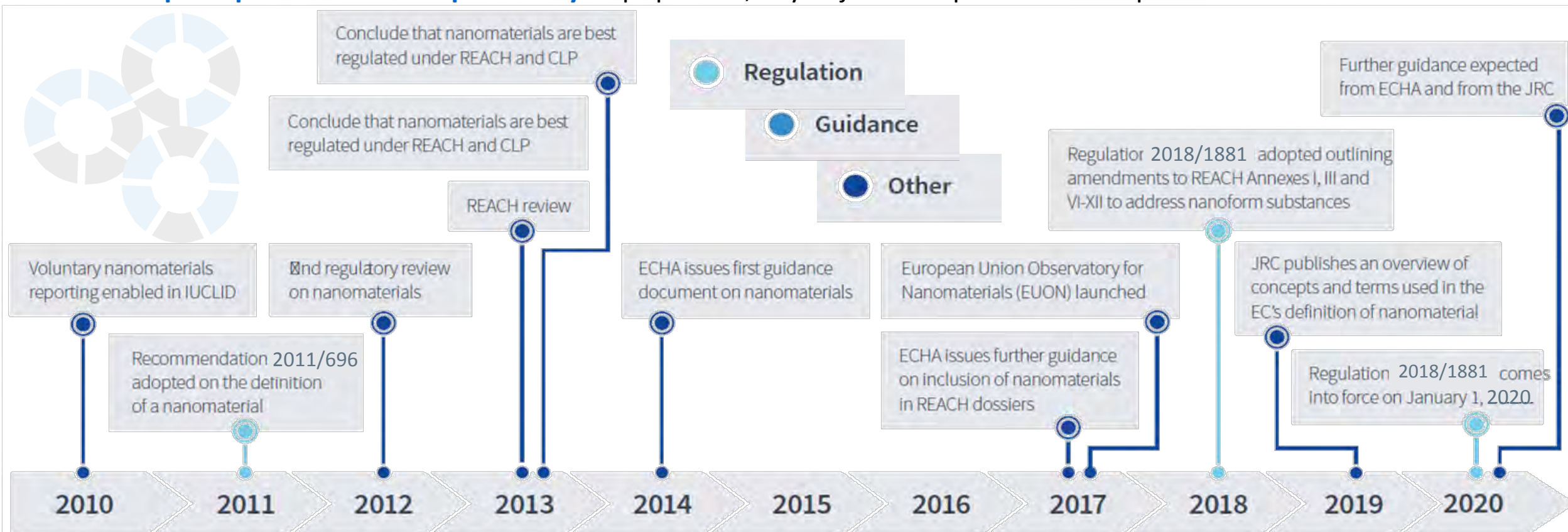
Zatím nelze odvodit spolehlivé specifické expoziční limity pro NMs



Hodnocení a management rizik NMs

- NMs splňují **definici „látky“** (nařízení REACH)

- Vztahují se na ně **legislativní předpisy týkající se chemické bezpečnosti** a bezpečnosti a ochrany zdraví osob při práci platné pro klasické chemické látky (např. nařízení REACH, CLP, rámcová směrnice o BOZP, směrnice o chemických faktorech).
- NMs specificky řešeny v **přílohách** k některým předpisům (např. REACH)
- Expoziční limity ani postupy hodnocení rizik zohledňující specifika NMs nejsou v platné legislativě dosud zakotveny
- Základní princip** hodnocení rizik **použitelný** i v případech, kdy nejsou k dispozici všechna potřebná data





EU legislativa a nanomateriály

Přehled evropské chemické legislativy, která specificky zmiňuje NM (nebo nanotechnologie)

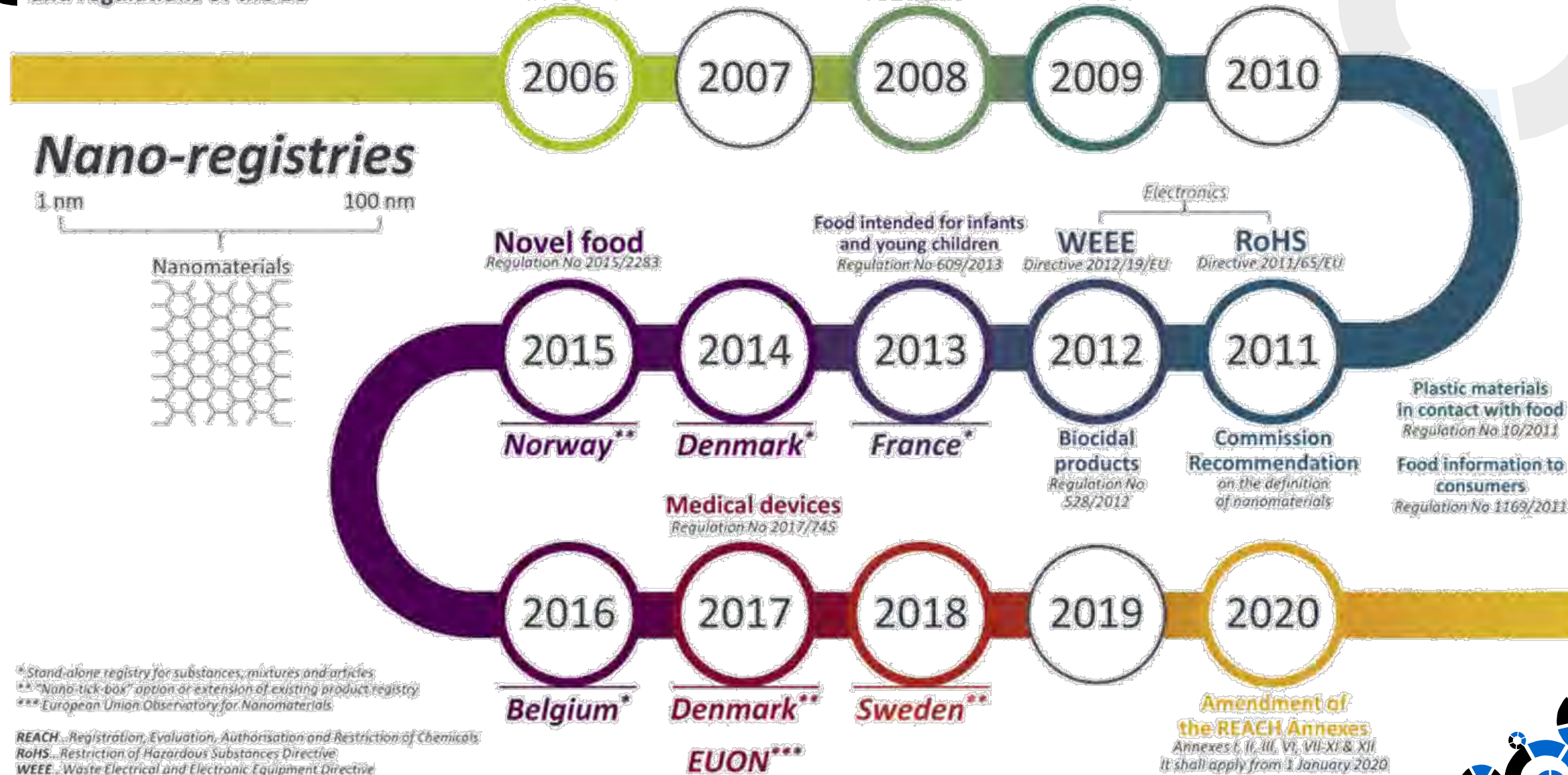
Regulatory framework	Definition	Approval procedure	Safety assessment	Labelling	Guidance
REACH (Chemicals) Regulation 1907/2006 and 2018/1881 (amended Annexes)	✓ "nanoforms"		✓		✓
Biocidal Products Regulation 528/2012	✓	✓	✓	✓	
Cosmetic Products Regulation 1223/2009	✓	✓	✓	✓	✓
Novel Food Regulation 2015/2283	✓	✓	✓	✓*	✓
Food Additives Regulation 1333/2008			✓	✓*	✓
Plastic Food Contact Materials Reg. 10/2011		✓	✓		
Active & Intelligent FCM Regulation 450/2009		✓	✓		
Food Information Provisions Regulation 1169/2011	✓			✓	
Medical Devices Regulation EU/2017/745	✓	Conformity assessment	✓		

- **Neexistuje specifická legislativa** pro hodnocení rizik NMs
- Chemická legislativa **REACH** pokrývá i NMs
- **Nařízení Komise (EU) 2018/1881** ze dne 3. prosince 2018, kterým se mění nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (REACH), pokud jde o přílohy I, III, VI, VII, VIII, IX, X, XI a XII, za účelem zohlednění nanoform látek
 - zaveden pojem **nanofорма**
- **Novější předpisy specificky zmiňují NMs** (Novel Food Regulation, Cosmetics Regulation, Biocides Regulation, Medical Devices Regulation + REACH-amended annexes)



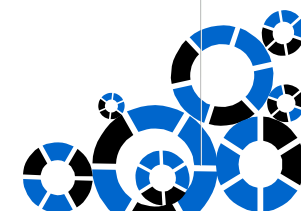
Registrace nanomateriálů

Nano-relevant directives and regulations of the EU



* Stand-alone registry for substances, mixtures and articles
 ** "Nano-tick-box" option or extension of existing products registry
 *** European Union Observatory for Nanomaterials

REACH: Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
 RoHS: Restriction of Hazardous Substances Directive
 WEEE: Waste Electrical and Electronic Equipment Directive



Současné EU (H2020) projekty zabývající se hodnocením rizik nanomateriálů



ACEnano
Analytical and Characterisation Excellence

Tiered approach to NM physicochemical characterisation that will simplify and facilitate hazard or exposure description and its transcription into a reliable NMs grouping framework.

Gov4Nano
meeting the needs of nanotechnology

The first implementation of a future-proof operational Nano Risk Governance Model addressing needs of the transdisciplinary field and innovative (and key enabling) character of nanotechnology.

gracious

A highly innovative science-based Framework to enable practical application of grouping, leading to read-across and classification of NMs

NanoCommons
Nano-Knowledge Community

A single integrated resource for nanoinformatics, an accessible, integrates computational tools for risk assessment and decision support, enables validation and facilitates the grouping

nix
nanoinformaTix

A web-based Sustainable Nanoinformatics Framework platform for risk management of NM in industrial manufacturing

NANORIGO

A transparent, transdisciplinary Nanotechnology Risk Governance Framework and a related Risk Governance Council.

NanoSolveIT

A validated tiered IATA to identify the critical characteristics of NMs responsible for their adverse effects. NM fingerprint – a set of descriptors and properties that can be predictively linked to NM properties, functionality and hazard

PATROLS
Advanced Tools for NanoSafety Testing

Realistic and predictive 3D tissue models for NM safety assessment, innovative methods for safety assessment in ecologically relevant test systems and organisms, robust computational methods, NM characterization under relevant experimental conditions

RISK GONE

A transparent, understandable and applicable risk assessment and decision-making tools and Framework and nano-specific draft guidance documents to support risk governance of NMs

SABYDOMA

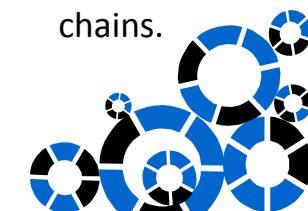
To bind the whole subject of SbD from laboratory innovation to the industrial production line and from decision making processes to project governance

SABYNA

An integrative user-friendly Guidance Platform with optimal workflows to support the development of safe-by-design of products and processes over the whole life cycle.

SbD Nano
SAFE BY DESIGN FOR NANO

A novel e-infrastructure for the definition, performance testing and implementation of SbD approaches in the nanotechnology supply chains.



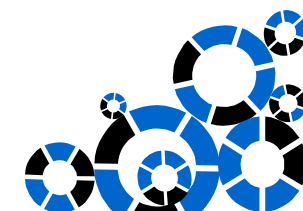


Ukončené EU projekty (FP6, FP7) zabývající se hodnocením rizik nanomateriálů



Table 1. Characteristics of risk governance frameworks developed or adapted for NMs during the last decade.

Framework	Advantages	Limitations	Data needs	Stakeholder acceptance	Applicability to third countries	Steps needed to bring to widespread acceptability/interoperability/utility for RGC
Nanorisk framework	Nanospecificity. Result of industry-NGO dialog, practical, transparent and flexible	Not widely accepted among NGO community, simplistic under conditions	Qualitative and normative, data are not handled	Unknown	Not country-specific	Update and expansion
ISO 31000:2018	Standardization and wide applicability, legal basis	Not nanospecific, adjustments needed	Qualitative and normative, data are not handled	Partial	Global	Nanospecificity
IRGC	Introduced by neutral party with good reputation, widely known. Wide applicability	Not nanospecific, generic risk governance concept, no legal status of the organization, not applied in a comprehensive tool	Qualitative and normative, data are not handled	Partial	Not country-specific	Nanospecificity, integration in a comprehensive online web-tool as a decision supporting system
iNTEG-Risk ERMF	Nanospecificity. Expansion of emerging risk management framework to NMs, elaboration of IRGC framework	Not applied in a comprehensive tool	Qualitative and normative, data are not handled	Unknown	EU-centric	Expansion to cover all stages of risk governance, integration in a comprehensive online web-tool
NanoTEST	Nanospecificity. Development of tools. Testing strategy (in vitro, in silico) and high throughput methods	Limited to hazard and risk assessment	High	Partial	Not country-specific	Integration in a comprehensive online web-tool as a decision supporting system for risk governance of NMs
MARINA	Nanospecificity. First generation, nanospecific and applied framework	Focus only on risk assessment strategies and risk management toolbox	High	Unknown	EU-centric	Expansion to cover all stages of risk governance, integration in a comprehensive online web-tool
SUN	Nanospecificity. Covers regulatory risk assessment functionalities. Framework supported by modular decision support system, online access. Tiered approach, tested	Data intensive	Tier 1: limited, Tier 2: high	Partial	EU-centric, possibly extendable	Expansion to integrate further modules, include guidance
NANoREG 1	Nanospecificity. Applicability of EU regulatory frameworks to NMs, practical guidance for regulatory and industry bodies. Covers strategies for REACH implementation. Supported by NANoREG Toolbox	Not applied in a comprehensive tool	Medium	Partial	EU-centric (adapts REACH), possibly extendable	Integration in a comprehensive online web-tool as a decision supporting system for risk governance of NMs, including examples of case studies and user-friendly search system for basic user queries
NANoREG 2	Nanospecificity. Defines SdD concept for NMs. Covers grouping concepts within regulatory frameworks. Provides new approaches of grouping NMs. Safe innovation approach	Not applied in a comprehensive tool	Medium	Partial	EU-centric, possibly extendable	Integration in a comprehensive online web-tool as a decision supporting system for risk governance of NMs, including examples of case studies and user-friendly search system for basic user queries
caLIBRATE	Nanospecificity. Supported by the nanorisk governance portal, business innovation centric, elaboration of ERMF framework	Not applied in a comprehensive tool	High, depending on tool selection	Unknown	EU-centric, possibly extendable	Integration in a comprehensive online web-tool as a decision supporting system
NanoMILE/ NanoCommons	Nanospecificity. Predictive models, risk assessment tools for the virtual screening of NMs through the Enalos cloud platform	Lacking guidance, life cycle considerations	High	Unknown	Non country specific	Available as a cloud platform and integrated as a tool in the NanoCommons research infrastructure; will be packaged as standalone software, more case studies to be included, range of NMs and endpoints extended in NanoCommons and NanoSolveIT projects





Nedostatky klasických přístupů hodnocení toxicity

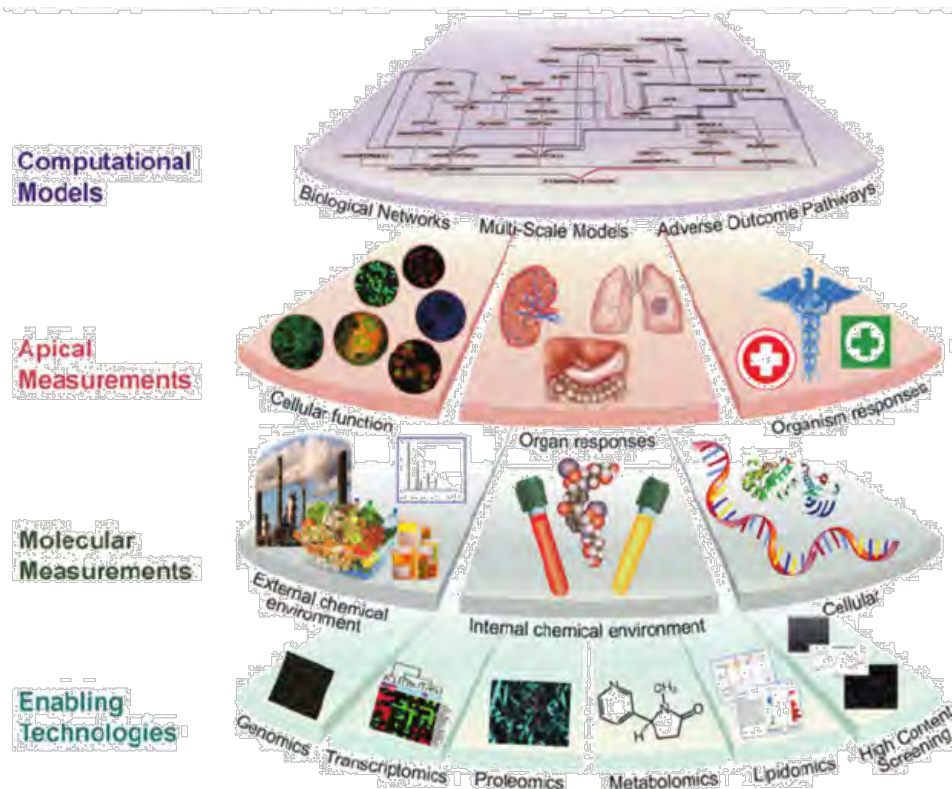


• NMs reprezentují nedostatky klasických přístupů hodnocení rizik z důvodů:

- obrovské **variability** NMs
- **dynamického chování** v závislosti na vlastnostech prostředí
- možných **neočekávaných mechanismů** toxicity
- Reálná expozice NM je obvykle dlouhodobá, opakovaná, v nízkých dávkách

➔ Podpora **rozvoje alternativních metod** (vysokokapacitních mechanisticky orientovaných *in vitro* testů)

Systems Toxicology

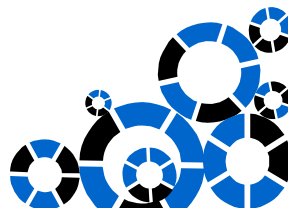


Knudsen TB, et al. *Toxicol Sci*, 2015, 143(2):256-67

Člověk
≠
70kg potkan



- **Klasické přístupy hodnocení toxicity** látek na experimentálních zvířatech vykazují řadu nedostatků
- Finanční a časová náročnost *in vivo* experimentů, extrapolace výsledků, etika, ...
- ➔ **Limitace využití potenciálu nových technologií**



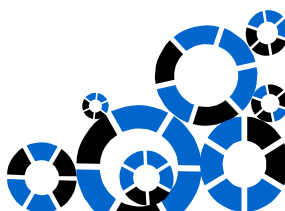


Alternativní přístupy hodnocení rizik (nejen) nanomateriálů

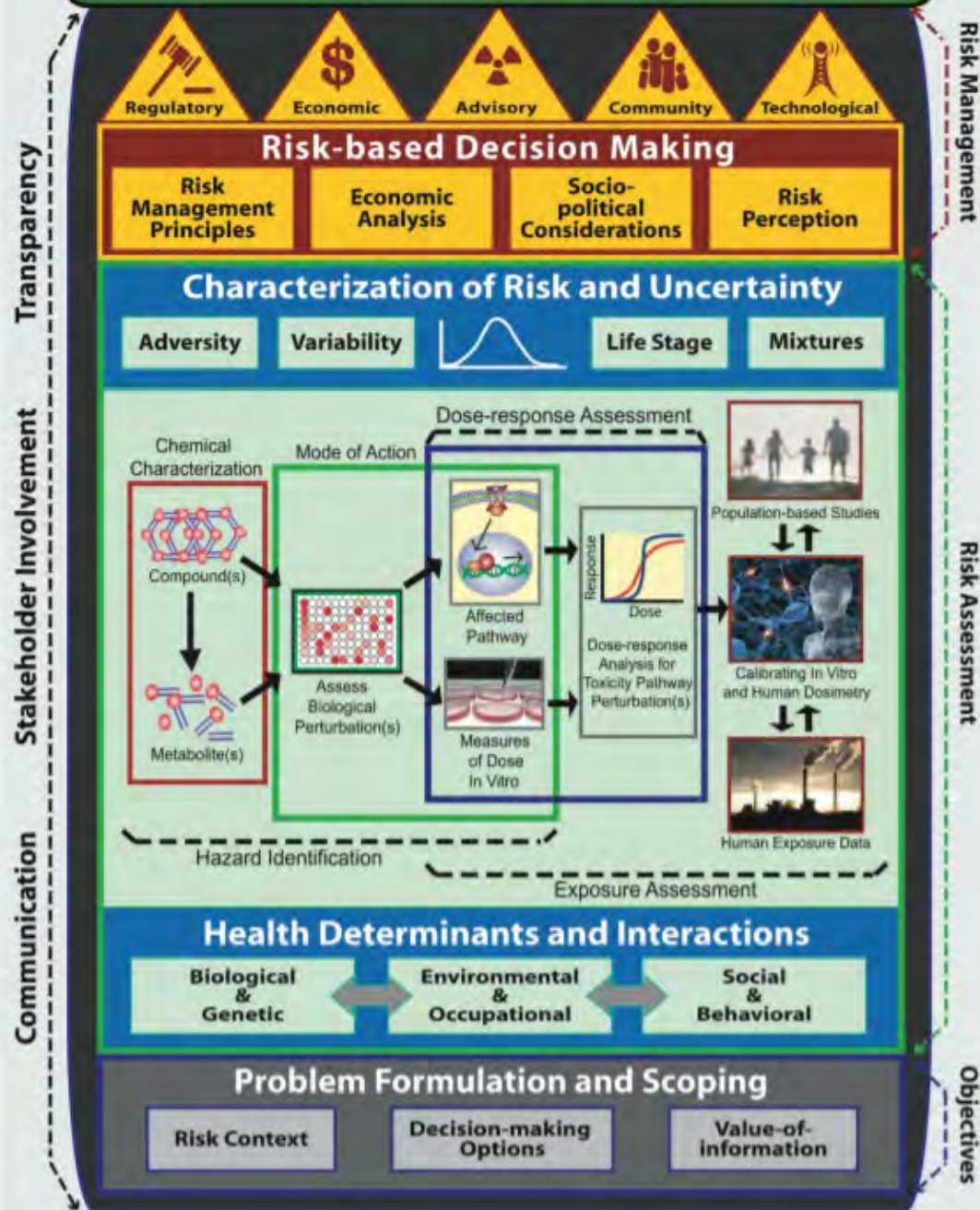
- **New Generation Risk assessment**
- **Risk Governance**
- (semi)kvantitativní nástroje (např. **Control Banding**)

- **NAMs = New Approach Methodologies**
(Metodiky nového přístupu)
- **IATA = Integrated Approach to Testing and Assessment**
(Integrovaný přístup ke zkouškám a posuzování)
- **Tiered testing strategies** (stupňovitý přístup testování)

- **AOPs = Adverse Outcome Pathways**
(Dráhy nežádoucích účinků)
- **Grouping + Read Across Approach**
(Sdružování látek do skupin + analogický přístup)
- **(nano)QSAR = Quantitative Structure-Activity Relationship**
Modely kvantitativních vztahů mezi strukturou a aktivitou (QSAR)

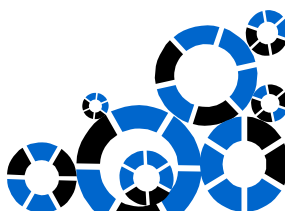


Population Health



Hodnocení rizik příští generace

- Důraz na **relevanci** (mechanistickou a biologickou) s ohledem na hodnocené riziko
- **Mechanisticky orientované** metody (AOPs)
- **Integrace** všech dostupných **výsledků** (zohledněna relevance a váha)
- **Transparentnost** metodik a výsledků (dostupnost protokolů i získaných dat)
- **High-throughput** metody (např. NGS)
- Důraz na **Safe-by-Design** přístup (SbD)
- **Hypothesis-driven**
- **Odklon od** klasických **testů na zvířatech** a podpora alternativních metod (in vitro metody, zvláště **organotypické kultury**)
- **Tiered approach** - zvyšující se úroveň komplexity





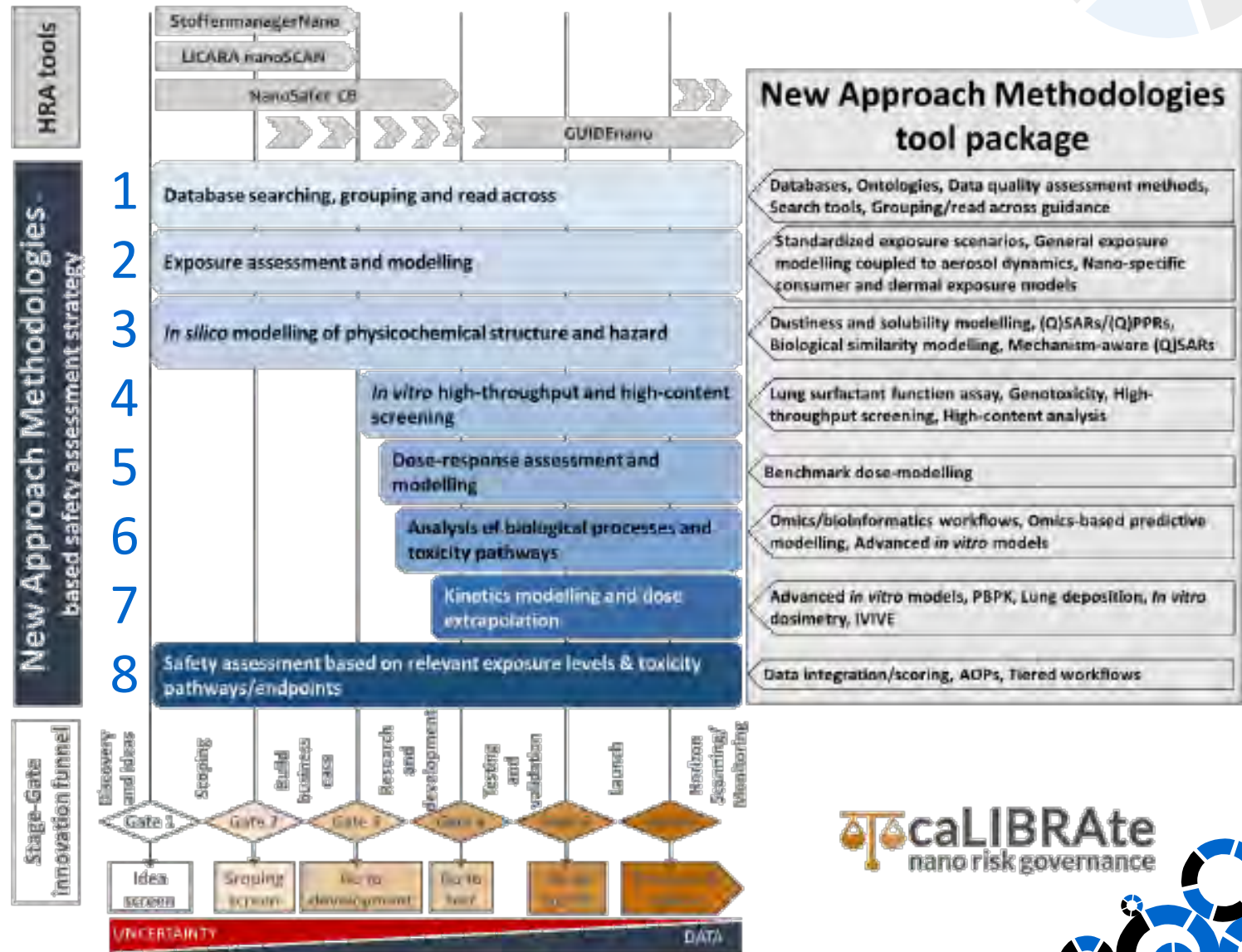
NAMs = New Approach Methodologies



Důraz na:

- **In vitro, in silico** a **in chemico** přístupy (nahrazení testů na zvířatech)
- **high-throughput screening** a **OMICs** (s cílem porozumět mechanismům aktivity)
- Informace o **toxikokinetice** a **toxikodynamice** z dat závislosti dávka-odpověď
- **Harmonizace** v reportování dat (referenční data, zvýšení kvality a reprodukovatelnosti dat; open source databáze, statistické analýzy - R)

8 hlavních kategorií



ECHA
EUROPEAN CHEMICALS AGENCY

New Approach Methodologies
in Regulatory Science

Proceedings of a scientific workshop
Helsinki, 19–20 April 2016

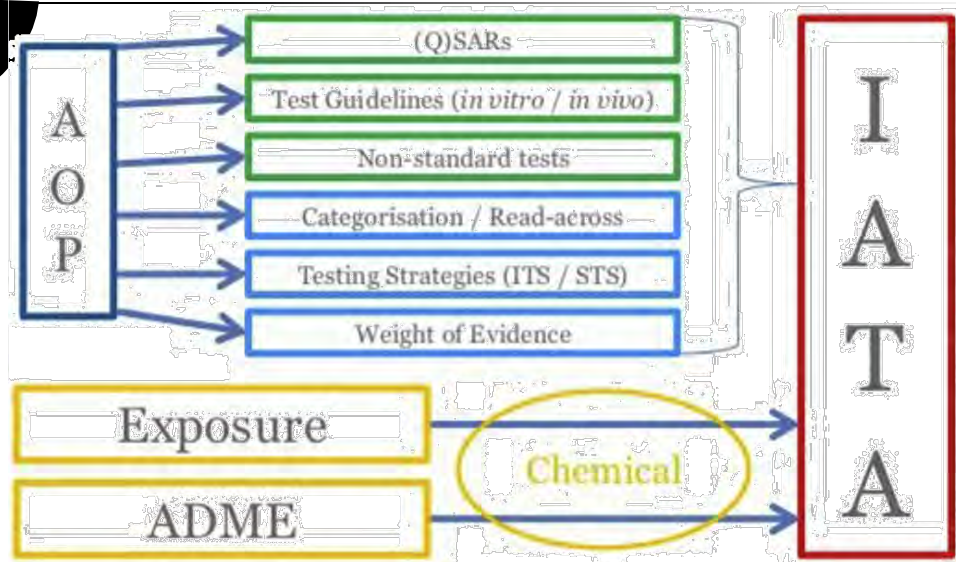
caLIBRate
nano risk governance





Overview of Concepts and Available Guidance related to Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA)

Series on Testing and Assessment
No. 329



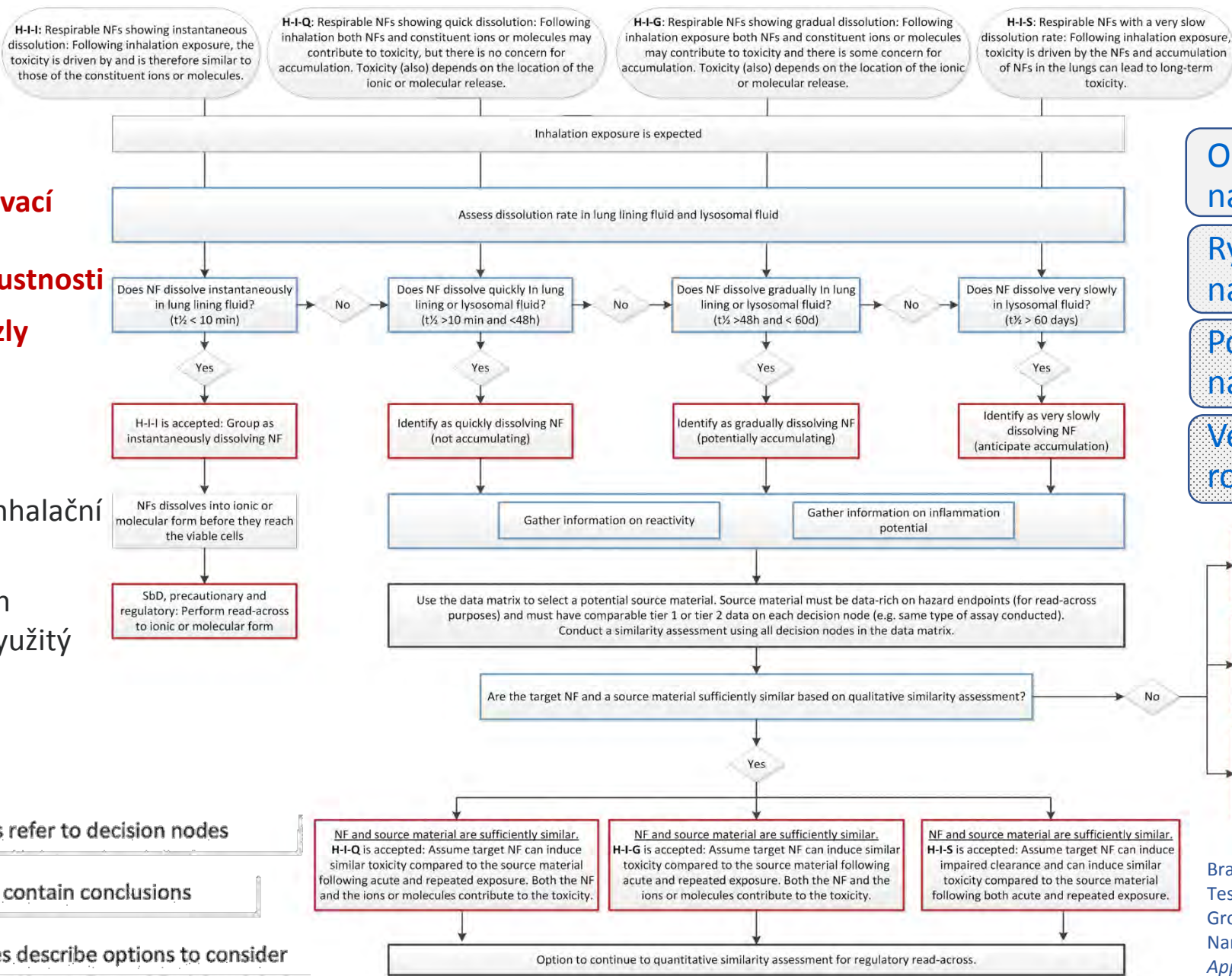
Dopp, E et al., 2019. Effect-based methods in combination with state-of-the-art chemical analysis for assessment of water quality as integrated approach. *Int J Hyg Environ Health*, 222(4): 607-614.

- **Strukturovaný přístup**, který strategicky **integruje a váží** všechna relevantní dostupná data pro **informovaný rozhodovací proces**
- Vychází z **formulace problému** (v kontextu rozhodovacích potřeb)
- Stanovuje požadavky na **cílené získávání dalších dat** potřebných pro spolehlivé hodnocení rizik a rozhodovací procesy Identifikuje **potřeby dalšího výzkumu** a chybějící data
- Hodnocení **vhodnosti metod**
- **Weight of evidence (WoE)**
- **Tiered testing approach** - postupné získávání dat (v případě dostatku dat není nutné pokračovat s dalšími analýzami)

General terms	<i>Ex vivo</i> method <i>In chemico</i> assay <i>In silico</i> approach <i>In vitro</i> assay <i>In vivo</i> method New approach methodology (NAM) Non-guideline method Test guideline method
Combinations of individual methods	Defined Approach (DA) Grouping and read-across
Examples of methods/methodologies/technologies*	3D-organoids Absorption, distribution, metabolism, excretion (ADME) models Biokinetic model Cell-based assay Chemical structure information High Content Imaging (HCI) High Content Screening (HCS) High Throughput Screening (HTS) High Throughput Toxicokinetics (HTTK) <i>In vitro</i> to <i>in vivo</i> extrapolation (IVIVE) Machine learning Metabolite identification Omics (including e.g. genomics, proteomics, metabolomics, transcriptomics) Organ-on-a-chip Physicochemical properties Physiologically-based toxicokinetic (PBTK) model Prediction model Quantitative AOP model Quantitative structure-activity relationship (QSAR) Reporter gene assays Reverse Toxicokinetics (RTK) Structure-activity relationship (SAR)



Příklad použití IATA: pro Grouping a Read-Across po inhalační expozici NMs



- Okamžitě rozpustná nanoforma
- Rychle rozpustná nanoforma
- Postupně rozpustná nanoforma
- Velmi pomalu rozpustná nanoforma

- Strukturovaný **rozhodovací strom** pro **sdužování nanoforem podle rozpustnosti**
- Využívá **rozhodovací uzly**
- Vychází z hypotézy pro sdužování nanoforem (**hypothesis-driven**)
- Sleduje **osud** NMs po inhalační expozici
- U okamžitě rozpustných nanoforem může být využitý přístup **read-across** a hodnocení podle molekulárních forem

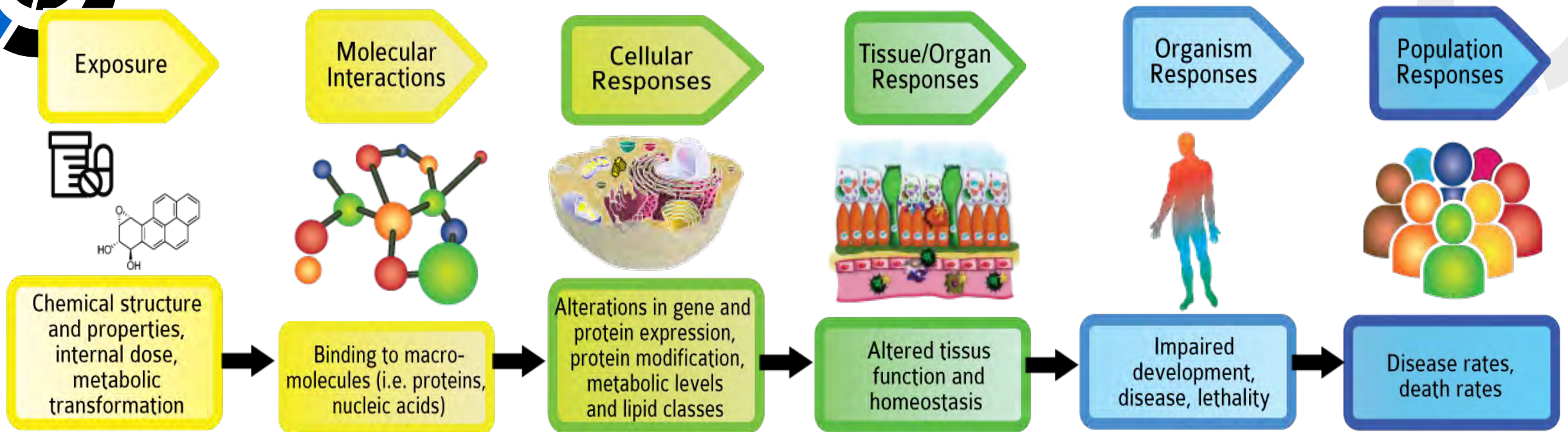
Text Blue-bordered boxes refer to decision nodes

Text Red-bordered boxes contain conclusions

Text Black-bordered boxes describe options to consider

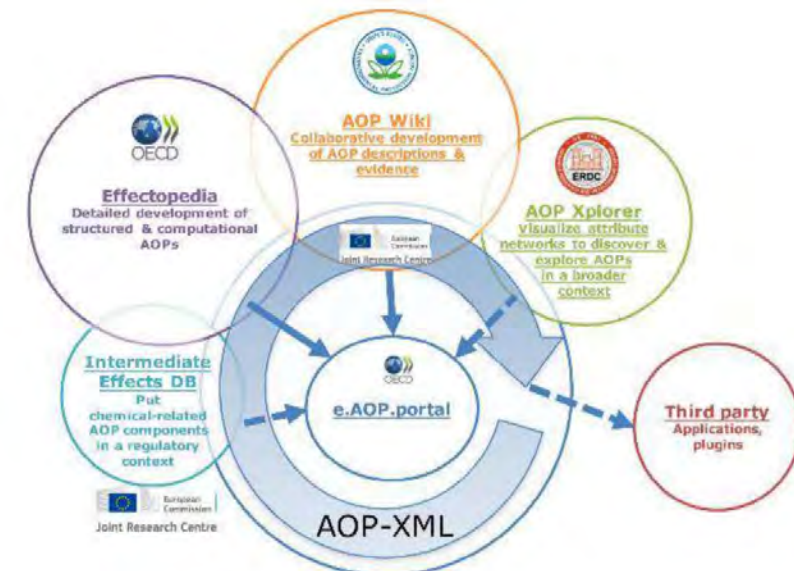
Braakhuis, HM. An Integrated Approach to Testing and Assessment to Support Grouping and Read-Across of Nanomaterials After Inhalation Exposure. *Applied In Vitro Toxicology*, 2021, 7(3).

AOPs = Adverse Outcome Pathways



<https://toxtutor.nlm.nih.gov/03-004.html>

- Sled událostí od **počátečního** (iniciačního) **bodu** (*Molecular initiating Event*) přes **dráhu toxicity** (*Toxicity Pathway*) ke **škodlivému účinku** (*Adverse Outcome*)
- Změny v anatomii nebo funkci jsou **důsledkem biochemických změn** (interakce látky a biomolekul)





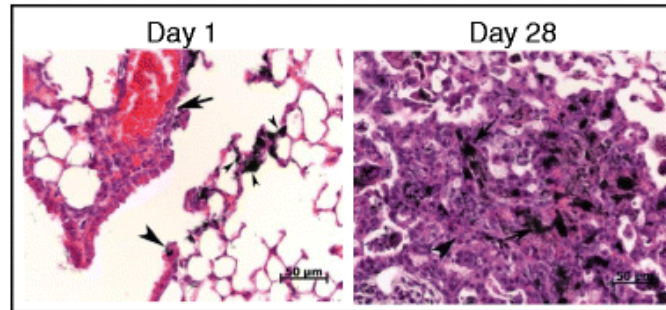
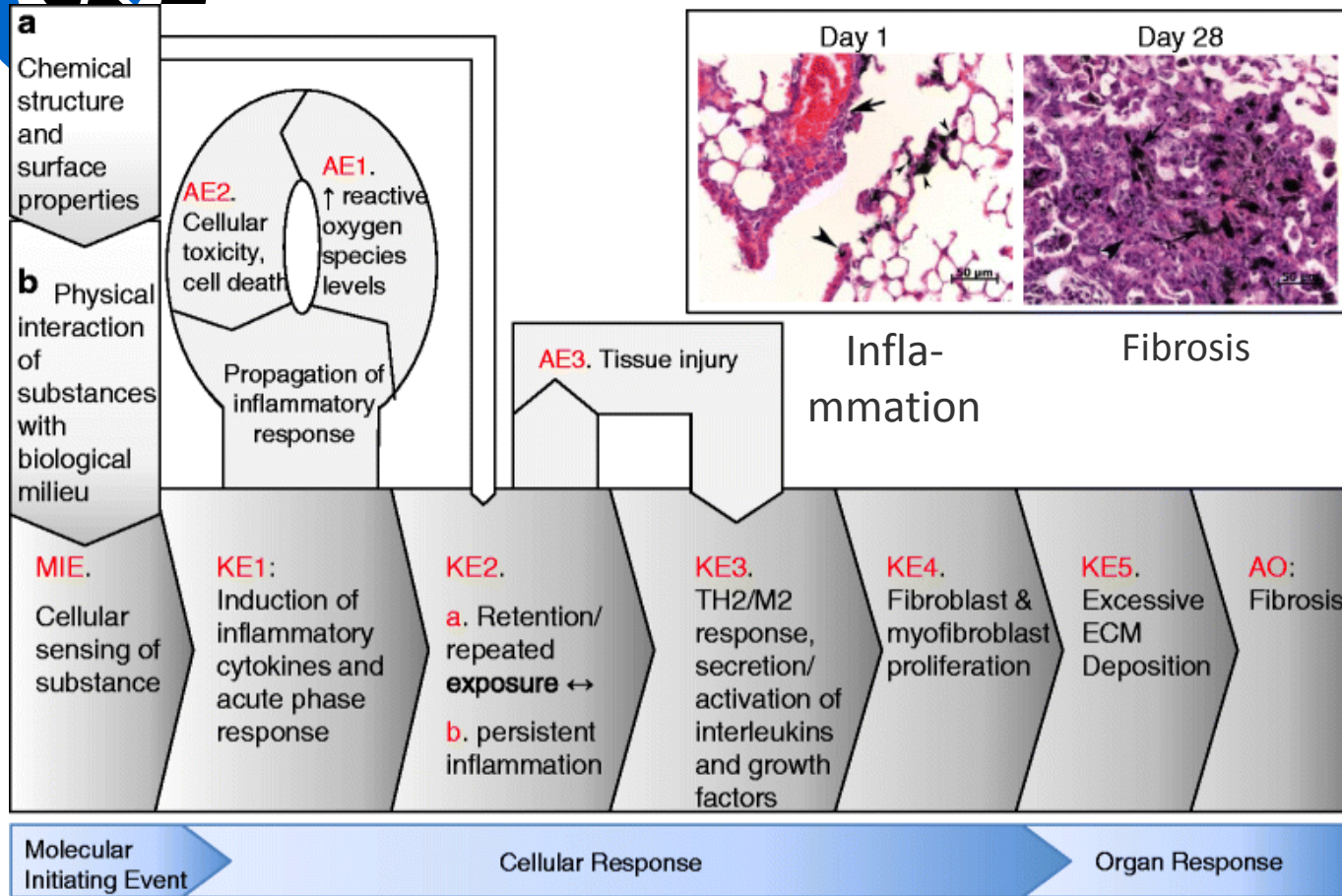
Popsané AOPs pro nanomateriály



Key word search	Associated AOPs	AOP number
Interaction of particles/fibres with cell membranes, Interaction of particles/fibres with biomolecules	Substance interaction with the lung cell membrane leading to lung fibrosis	173
	Ionizing energy leading to lung cancer	272
	lysosomal uptake induced liver fibrosis	144
	Mitochondrial complex inhibition leading to liver injury	273
	Lung surfactant function inhibition leading to immediate adverse lung effects	302
	ACE2 binding to viral S protein, Acute respiratory distress	320
	Mitochondrial dysfunction and neurotoxicity	3
	Chemical binding to tubulin in oocytes leading to aneuploid offspring	106
	Complex I inhibition leads to Fanconi syndrome	276
	Receptor mediated endocytosis and lysosomal overload leading to kidney toxicity	257
Lysosomal damage, lysosomal disruption, lysosomal injury	ionotropic glutamatergic receptors and cognition	48
	Substance interaction with the lung cell membrane leading to lung fibrosis	173
	Lysosomal uptake induced liver fibrosis	144
	Protein alkylation to liver fibrosis	38
	IKK complex inhibition leading to liver injury	278
	Mitochondrial complex inhibition leading to liver injury	273
	Increased DNA damage leading to breast cancer	293
	RONS leading to breast cancer	294
	Oxidative stress and developmental impairment in learning and memory	17
	Receptor mediated endocytosis and lysosomal overload leading to kidney toxicity	257
	Mitochondrial dysfunction and neurotoxicity	3
	ionotropic glutamatergic receptors and cognition	48
	Binding of antagonist to NMDARs impairs cognition	13
	Binding of antagonist to NMDARs can lead to neuroinflammation and neurodegeneration	12
	AChE inhibition leading to neurodegeneration	281

DNA damage, Oxidative DNA damage, DNA strand breaks, DNA methylation	Oxidative DNA damage, chromosomal aberrations and mutations	296
	ER activation to breast cancer	200
	Increased DNA damage leading to breast cancer	293
	RONS leading to breast cancer	294
	Excessive ROS leading to mortality	330
	Frustrated phagocytosis-induced lung cancer	303
	Ionizing energy leading to lung cancer	272
	ROS production leading to population decline via follicular atresia	216
	Uncoupling of OXPHOS leading to growth inhibition	266
	Thermal stress leading to population decline	325
Reactive oxygen species, ROS formation, ROS generation	NADPH oxidase activation leading to reproductive failure	207
	Alkylation of DNA leading to reduced sperm count	322
	DNMT inhibition leading to population decline (1)	336
	DNMT inhibition leading to population decline (2)	337
	DNMT inhibition leading to transgenerational effects (1)	340
	DNMT inhibition leading to transgenerational effects (2)	341
	PPARG modification leading to adipogenesis	72
	Thermal stress leading to population decline (3)	326
	Chronic ROS leading to human treatment-resistant gastric cancer	298
	Frustrated phagocytosis-induced lung cancer	303
	Mitochondrial complex inhibition leading to liver injury	273
	Cholestatic Liver Injury induced by Inhibition of the Bile Salt Export Pump (ABCB11)	27
	Inhibition fatty acid beta oxidation leading to nonalcoholic steatohepatitis (NASH)	213
	unknown MIE renal failure	186
	Calcium-mediated neuronal ROS production and energy imbalance	26
	Excessive ROS leading to mortality	327
	Excessive ROS leading to mortality	328
	Excessive ROS leading to mortality	329
	Excessive ROS leading to mortality	330
	Uncoupling of OXPHOS leading to growth inhibition	266
Uncoupling of OXPHOS leading to growth inhibition	267	
Uncoupling of OXPHOS leading to growth inhibition	268	
ROS production leading to population decline via mitochondrial dysfunction	311	
ROS production leading to population decline via follicular atresia	216	
Thermal stress leading to population decline	325	
Thermal stress leading to population decline	326	
NADPH oxidase activation leading to reproductive failure	207	
Reactive oxygen species generated from photoreactive chemicals leading to phototoxic reactions	282	
ROS production leading to population decline via reduced FAO	299	

AOP pro plicní fibrózu po inhalační expozici CNT



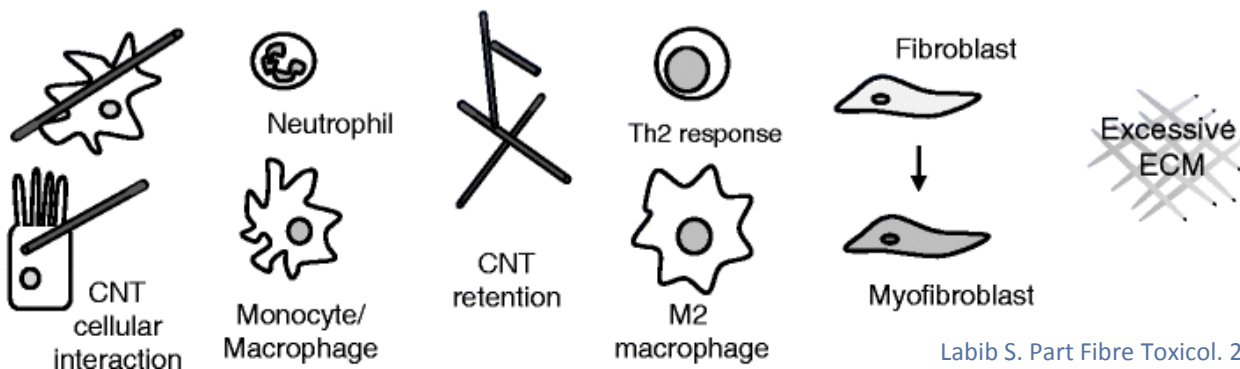
<http://www.pulmonary-fibrosis.net/index.php/european-ipf-registry-and-biobank/background-and-state-of-the-art/27-epidemiology-and-natural-course-of-ipf>

MIE = Molekulární iniciační událost (*Molecular Initiating Event*) - interakce látky s biologickým systémem na makromolekulární úrovni

KE = Klíčové události (*Key Events*) - mezikroky, které jsou toxikologicky relevantní a vedou k škodlivému účinku, **experimentálně kvantifikovatelné** (předmětem hypotéz)

AE = Asociované události (*Associative Event*)

AO = Škodlivý účinek (*Adverse Outcome*)





Návrh *in vitro* strategie založené na AOPs k testování potenciálu NM způsobovat plicní fibrózu

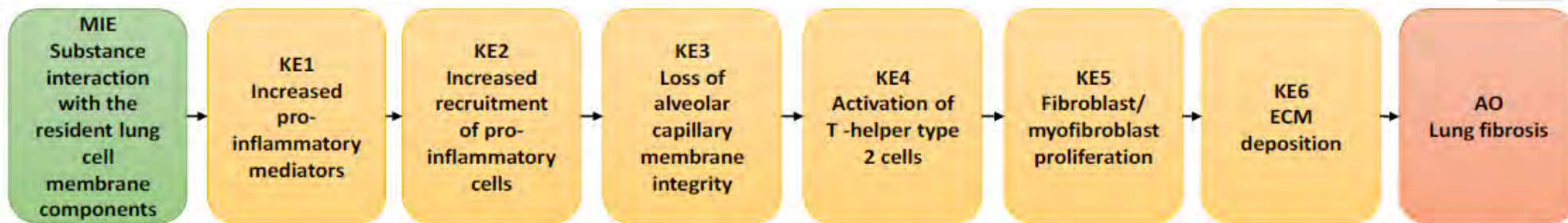
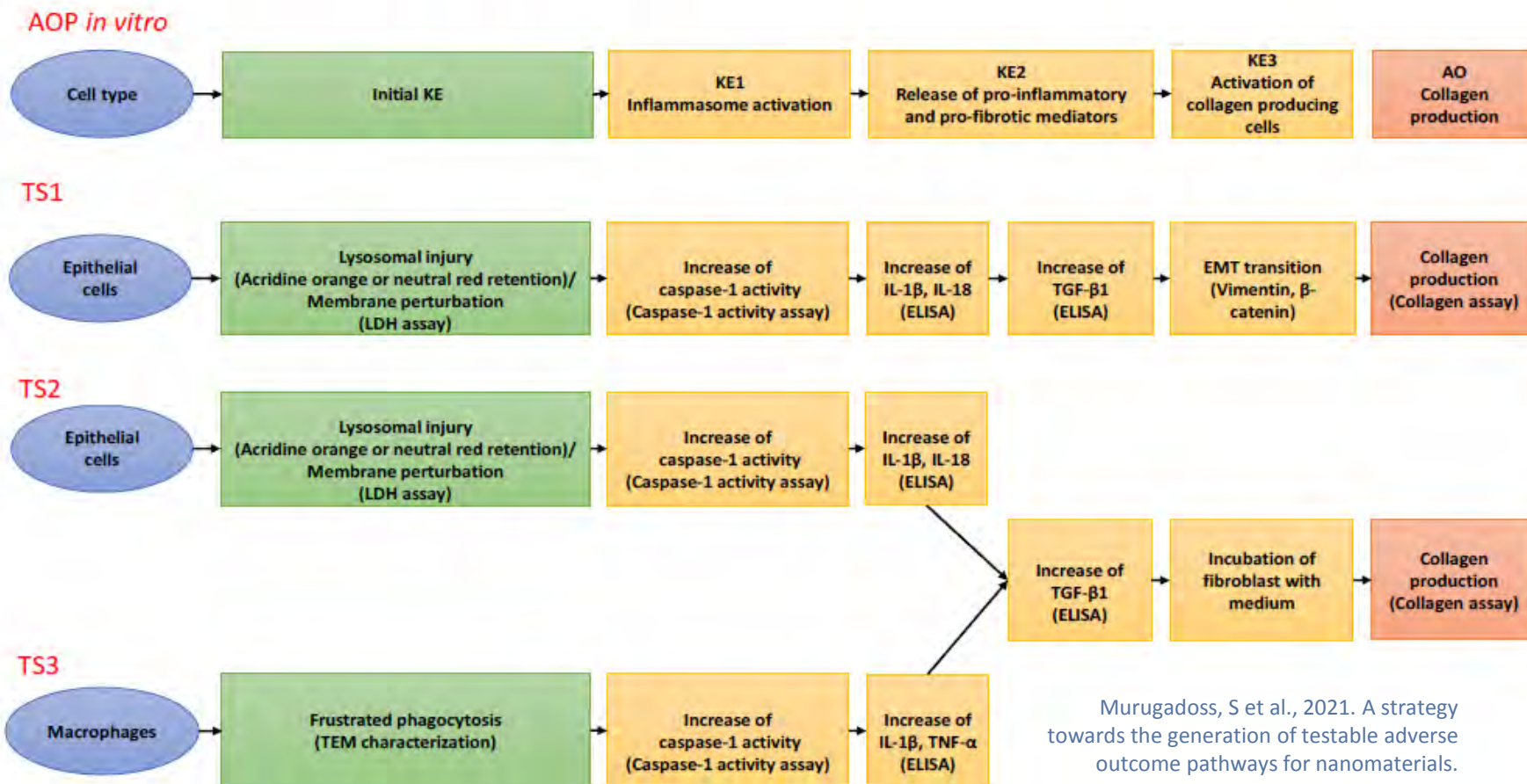
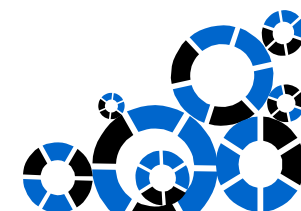


Fig. 3: Schematic representation of the AOP 173



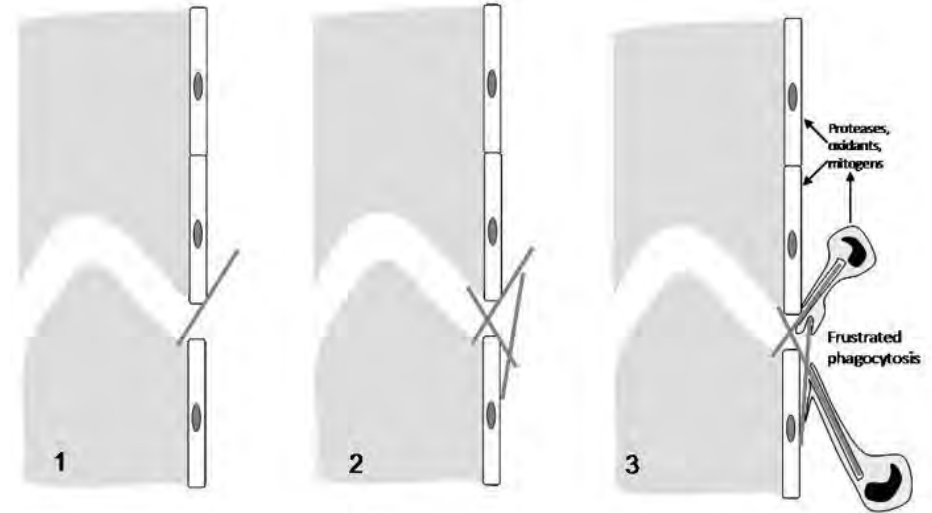
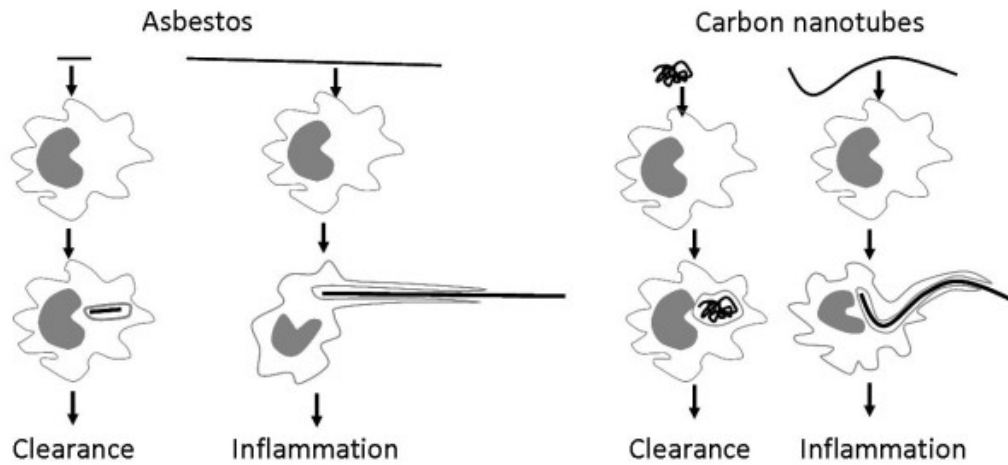
Murugadoss, S et al., 2021. A strategy towards the generation of testable adverse outcome pathways for nanomaterials.



Frustrovaná fagocytóza



Harmless



Pathogenic fibre parameters

Long

Not completely enclosed by macrophages producing frustrated phagocytosis ; cannot be effectively cleared

Thin

Small aerodynamic diameter enables deposition beyond the ciliated airways

Biopersistent

Retains fibrous shape during residence in the lungs and so long fibre dose accumulates

Level of organisation	Initiating event	Key Events	Adverse Outcome
Macro-molecular	Frustrated Phagocytosis		
Cell (macrophage and mesothelial cells)		<ul style="list-style-type: none"> Increased, Secretion of pro-inflammatory mediators Increased, influx of inflammatory cells Increased cytotoxicity, local tissue damage 	
Tissue (Mesothelium)		<ul style="list-style-type: none"> Propagation, inflammation, granuloma formation Increased, Secretion of local growth factors Increased, Mesothelial cell proliferation Increased, Oxidative stress Increased, Oxidative DNA damage 	
Organ/Organ system		Increased, cell transformation	Mesothelioma
Individual			Increased mortality

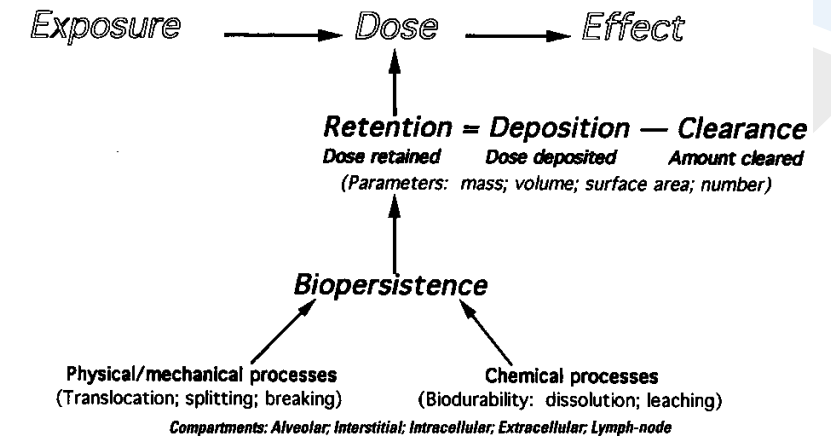
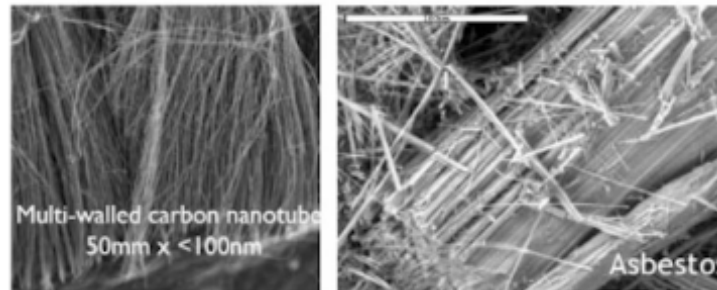
> 5 μm, diameter < 3 μm, aspect ratio > 3:1



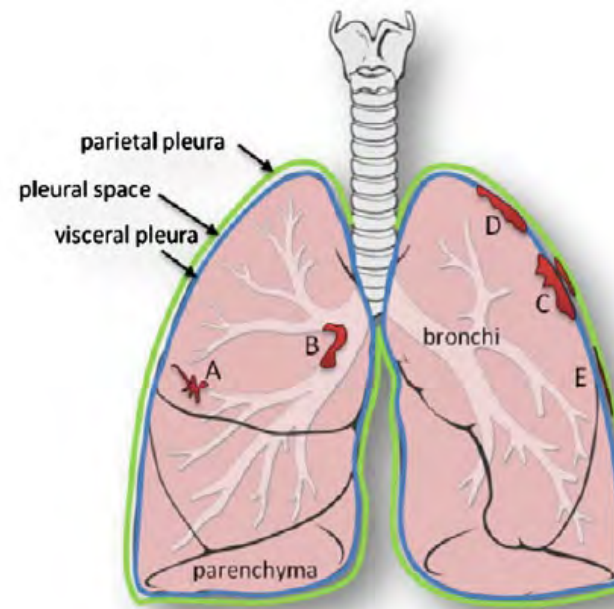
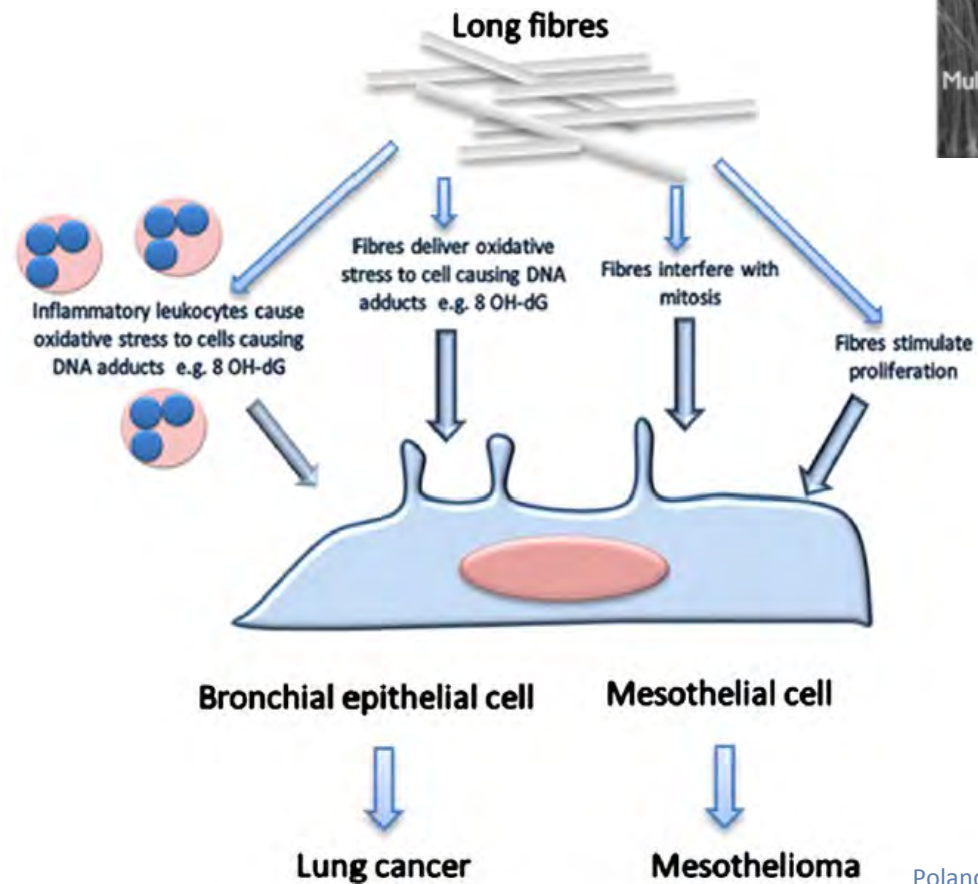
Paradigma toxicity vláken

- Asociace fyzikálně-chemických vlastností s toxicitou
- Azbestová vlákna, skelná vlákna, ..., ?nanovlákna – např. uhlíkové trubičky?

> 5 μm, diameter < 3 μm, aspect ratio > 3: 1



Oberdorster G. et al. Environmental Health Perspectives, 1994, 102: 173 - 179

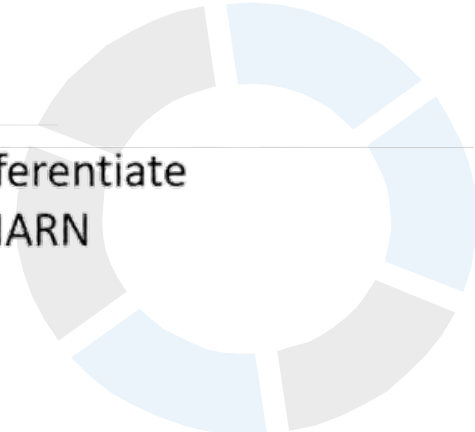


Label	Pathology	Site
A	Asbestosis	Parenchyma
B	Bronchogenic carcinoma (lung cancer)	Bronchi
C	Mesothelioma	Pleurae
D	Pleural fibrosis	Pleurae
E	Pleural plaque	Parietal pleura

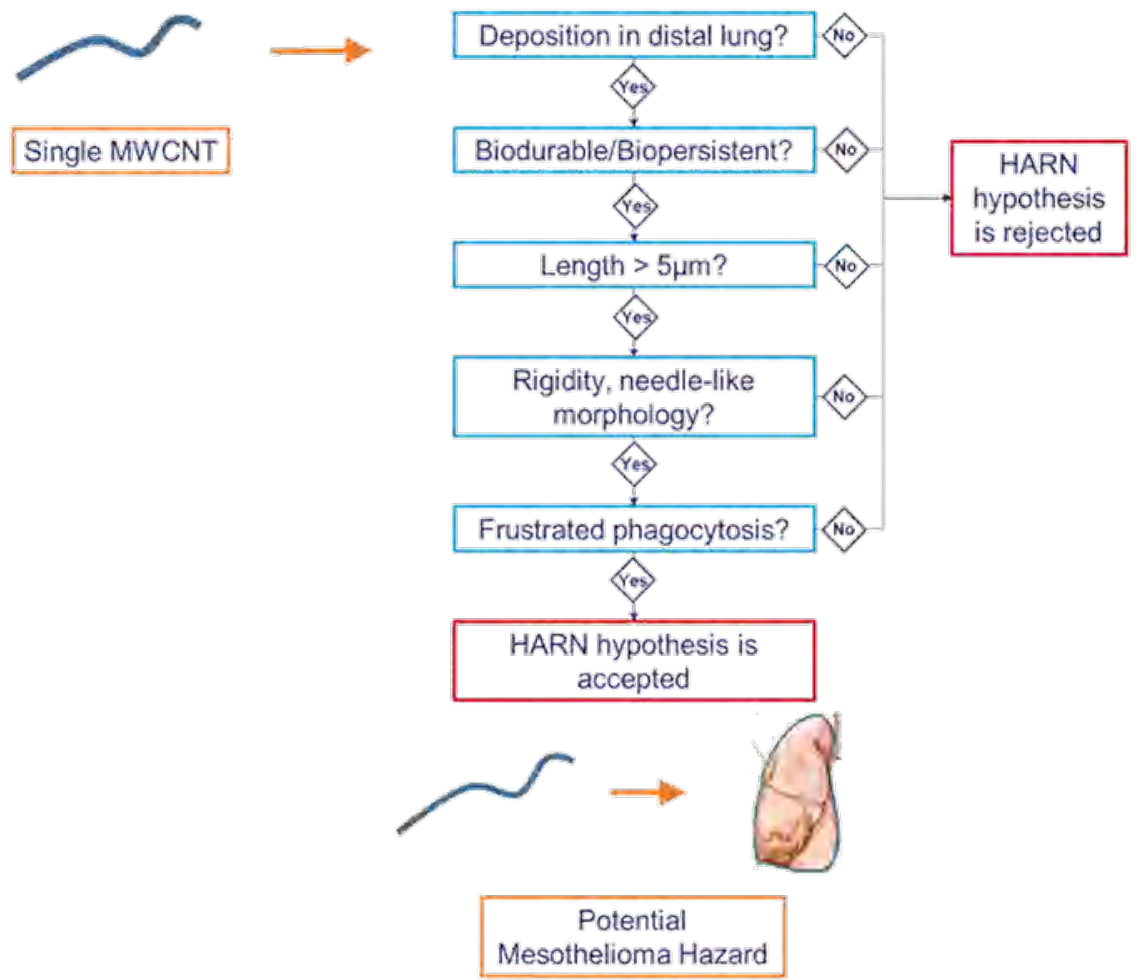




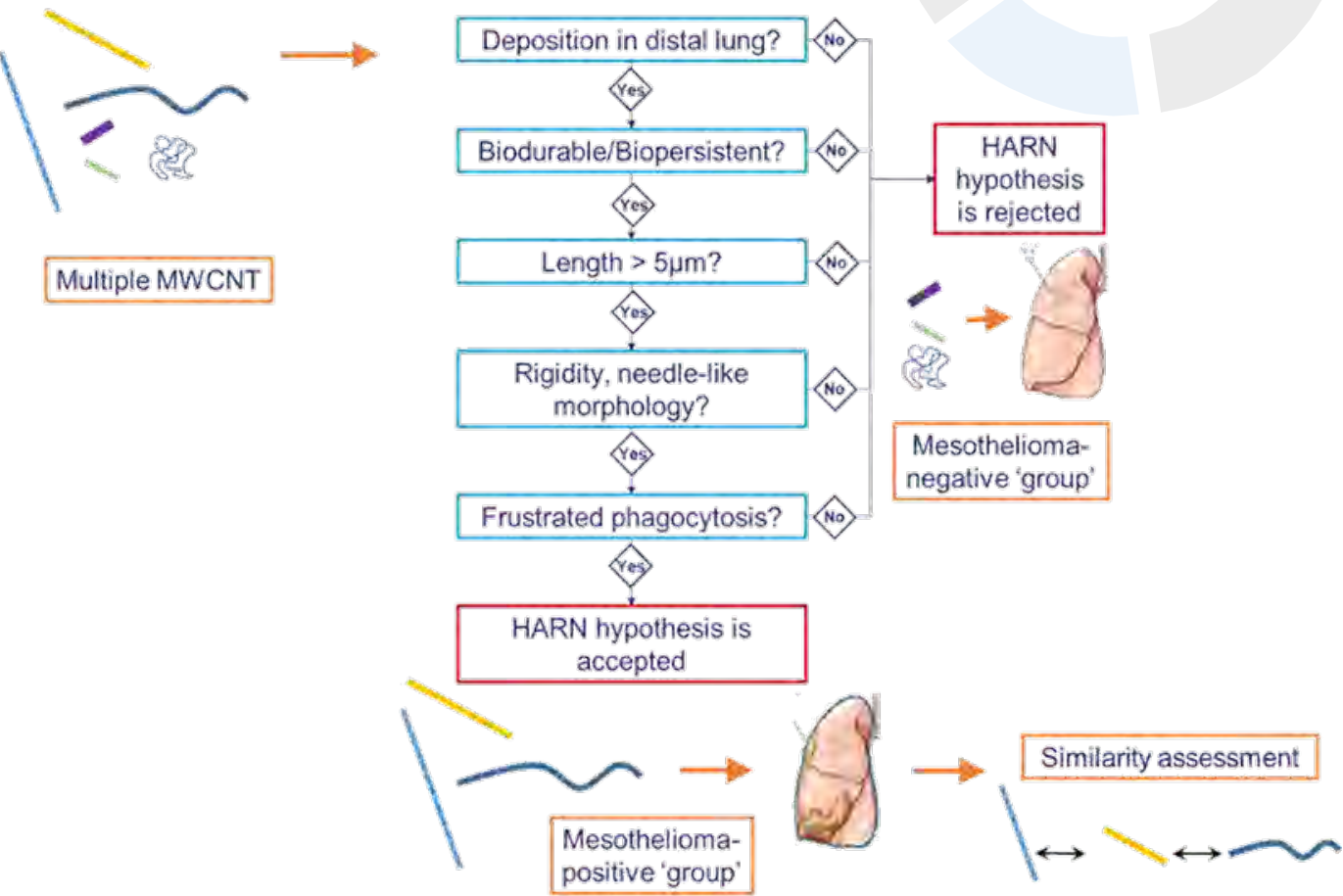
Grouping + Read-across



Case-study Aim: to test IATA effectiveness for prediction of mesothelioma hazard

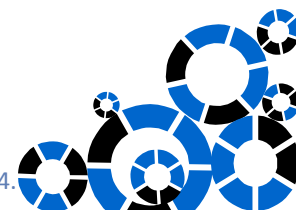


Case-study Aim: to test IATA capability to differentiate mesothelioma-positive and -negative HARN



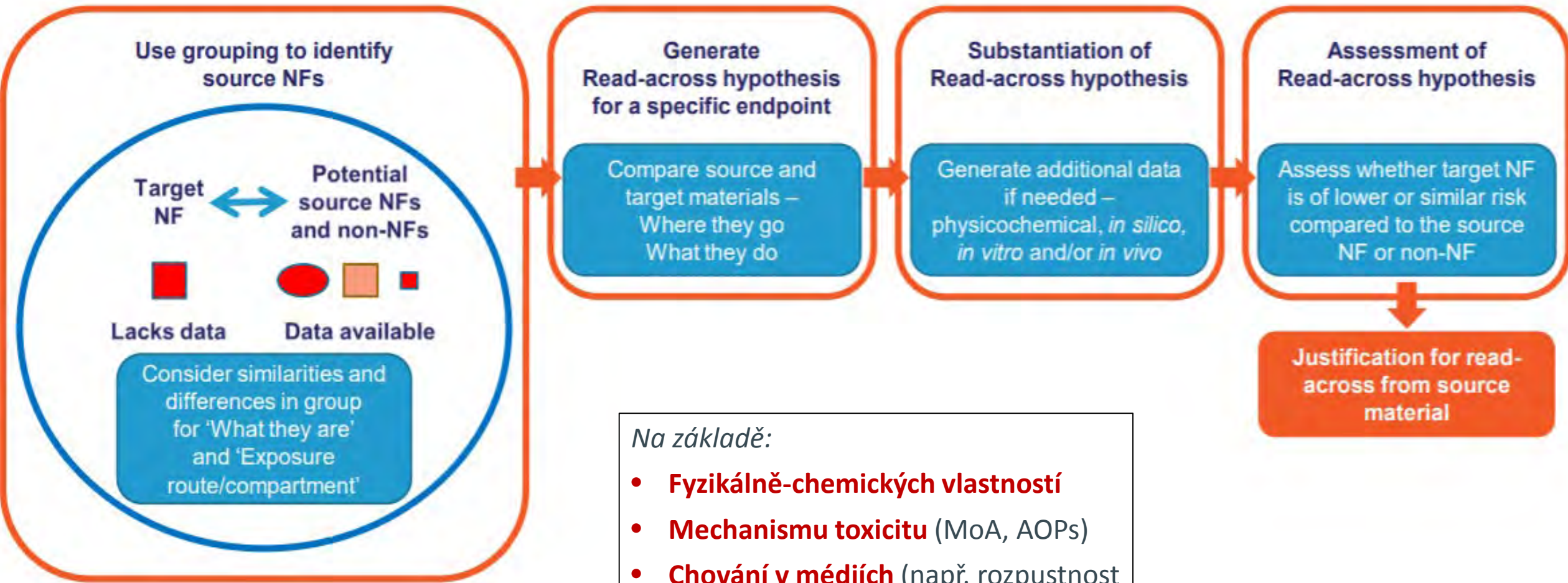
Application: Safe(r)-by-Design decision making

Application: Grouping and Read-across

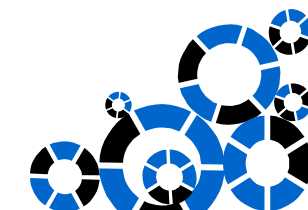




Read-across framework

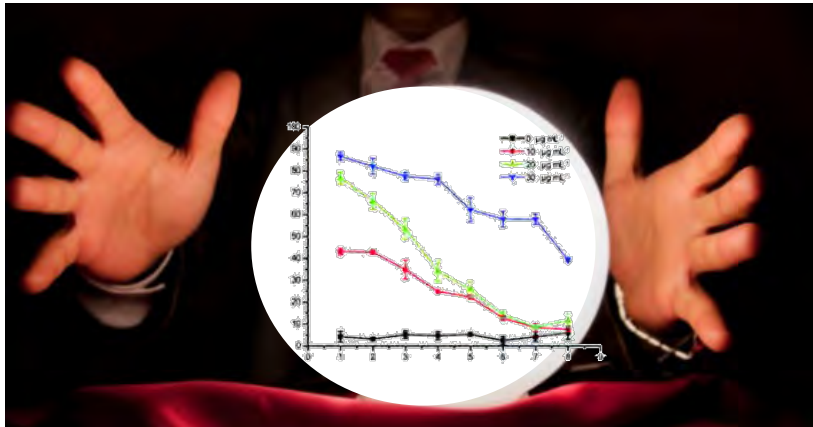
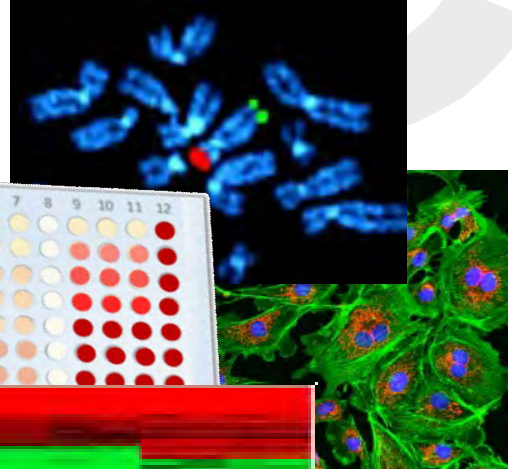
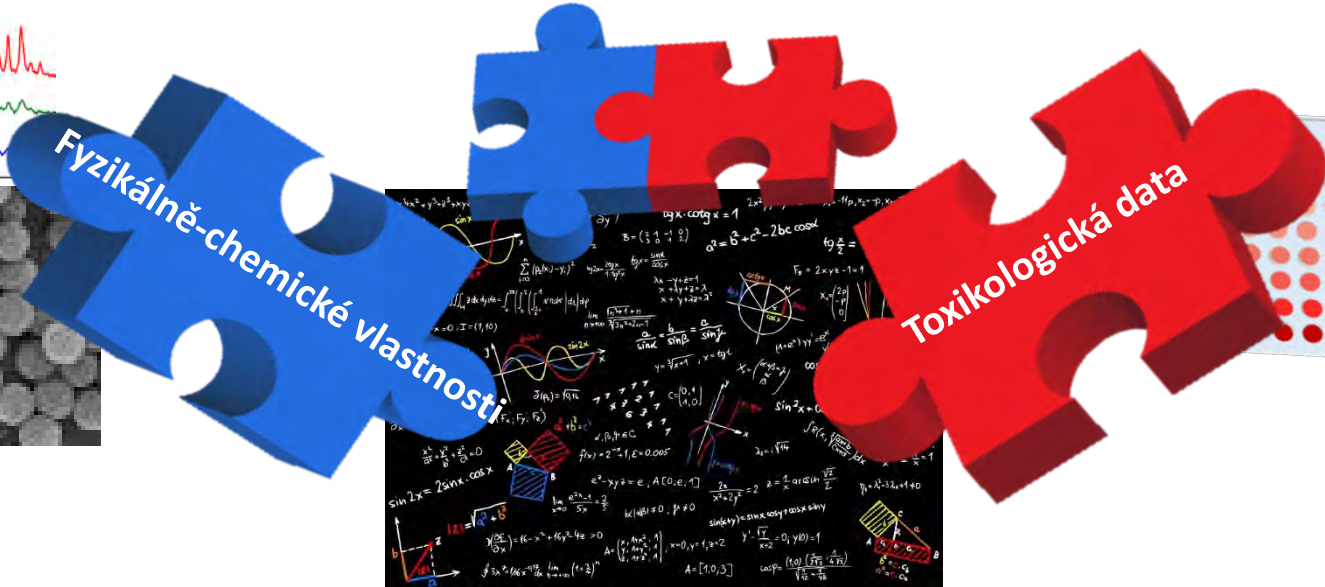
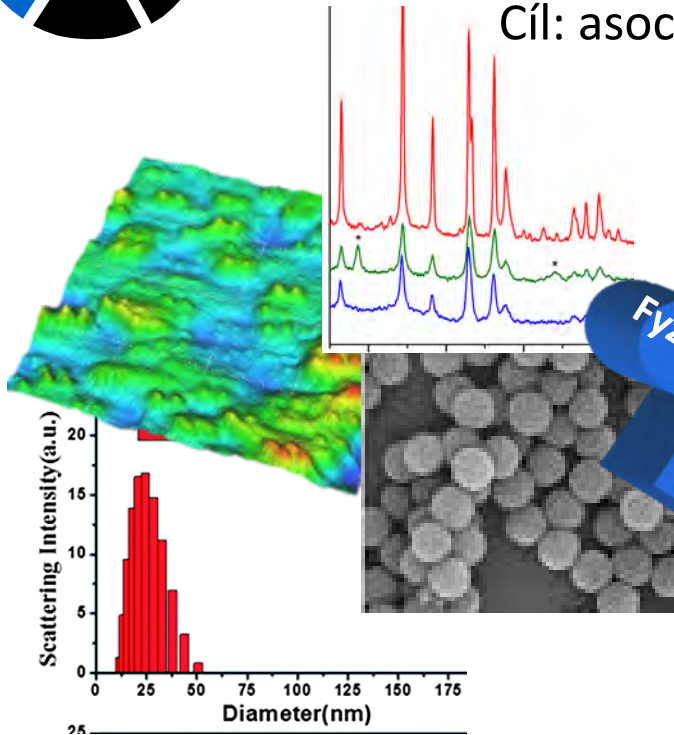


- Na základě:
- **Fyzikálně-chemických vlastností**
 - **Mechanismu toxicitu** (MoA, AOPs)
 - **Chování v médiích** (např. rozpustnost v biologicky relevantních médiích)



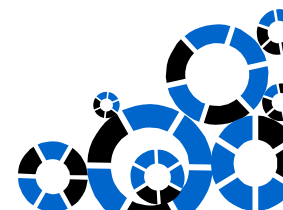
Počítačové modelování toxicity nanomateriálů - nanoQSAR

Cíl: asociovat fyzikálně chemické vlastnosti NM s jejich **toxickými účinky**



Predikce toxicity
založená na
znalosti
fyzikálně-
chemických
vlastnostech
nanomateriálů

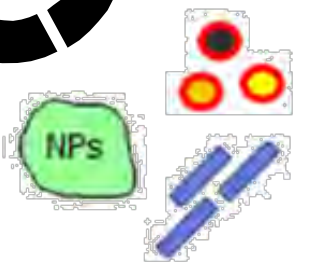
**“Safe-by-
design”**
Designování
nanomateriál
ů s nízkou
toxicitou



nanoQSAR –

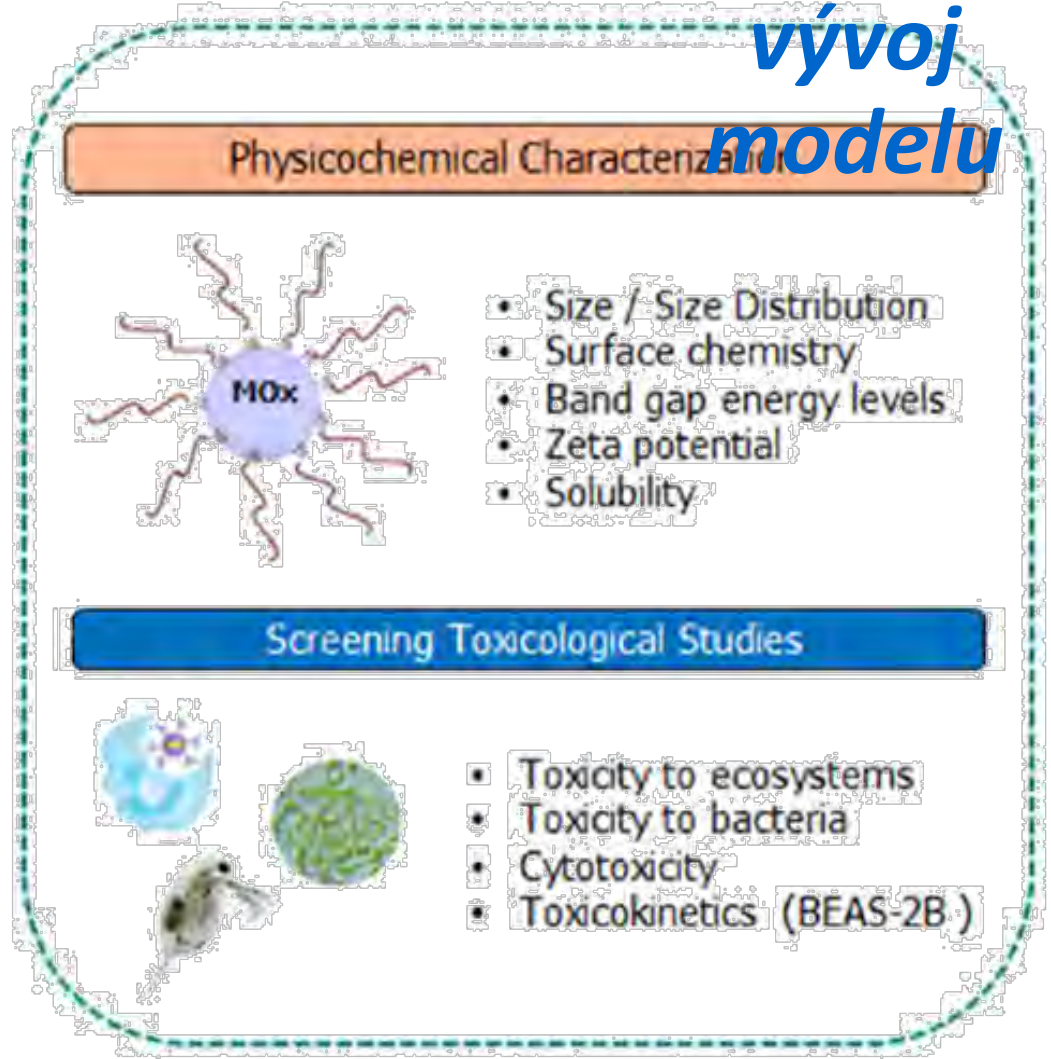
vývoj modelu

In depth Study of ENMs on the Market



Selection of the Target ENMs

- Tonnage Level
- Hazards
- Use
- Applications



Applications of Quantum Mechanical Semiempirical and ab initio Methods



$$\left[\text{Activity} \right] = f \left[\text{Structure} \right]$$



Měkké nástroje managementu rizik nanomateriálů

Např. Control Banding (CB)

- **Alternativní** přístupy managementu rizik
- Při **vysoké nejistotě** vstupních dat
- Uplatňování **PPO**
- (semi)**kvalitativní** hodnocení rizik

- Vychází z **klasického schématu** hodnocení rizik (nebezpečnosti x expozice = riziko)
- **Kategorizace** nebezpečnosti a expozice do pásem (bandů). Kombinace bandů následně určuje nutnost zavádění kontrolních opatření
- Vyvinut ve **farmaceutickém průmyslu** (nástroj k zajištění bezpečnosti pracovníků při nakládání s látkami v ranné fázi vývoje)
- Umožnit plnění požadavků na zajištění bezpečnosti svých zaměstnanců, přestože nedisponují experty na problematiku hodnocení rizik chemických látek.
- Systém **navržený experty** na chemickou bezpečnost
- Cílen na **malé a střední podniky**

Třída rizika (RB)		Třída expozice (exposure band, EB)			
		EB1	EB2	EB3	EB4
Třída nebezpečnosti (hazard band, HB)	HB4	RB3	RB3	RB4	RB4
	HB3	RB2	RB2	RB3	RB4
	HB2	RB1	RB1	RB2	RB3
	HB1	RB1	RB1	RB1	RB2

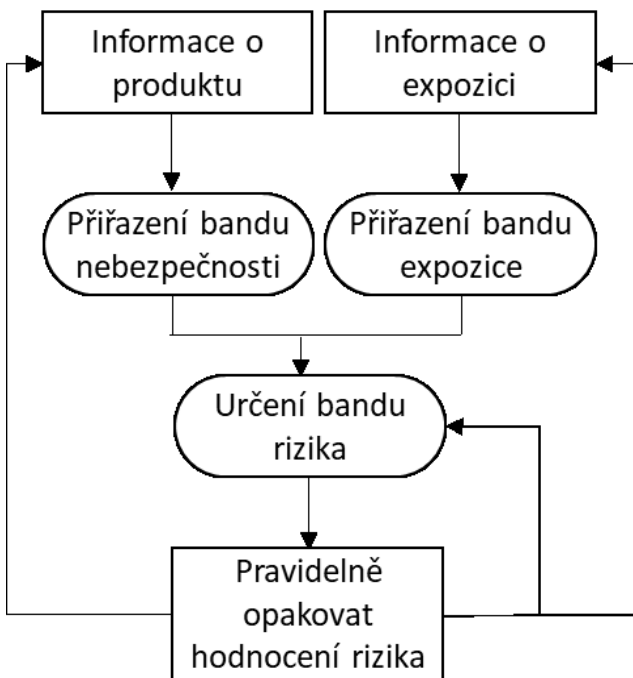
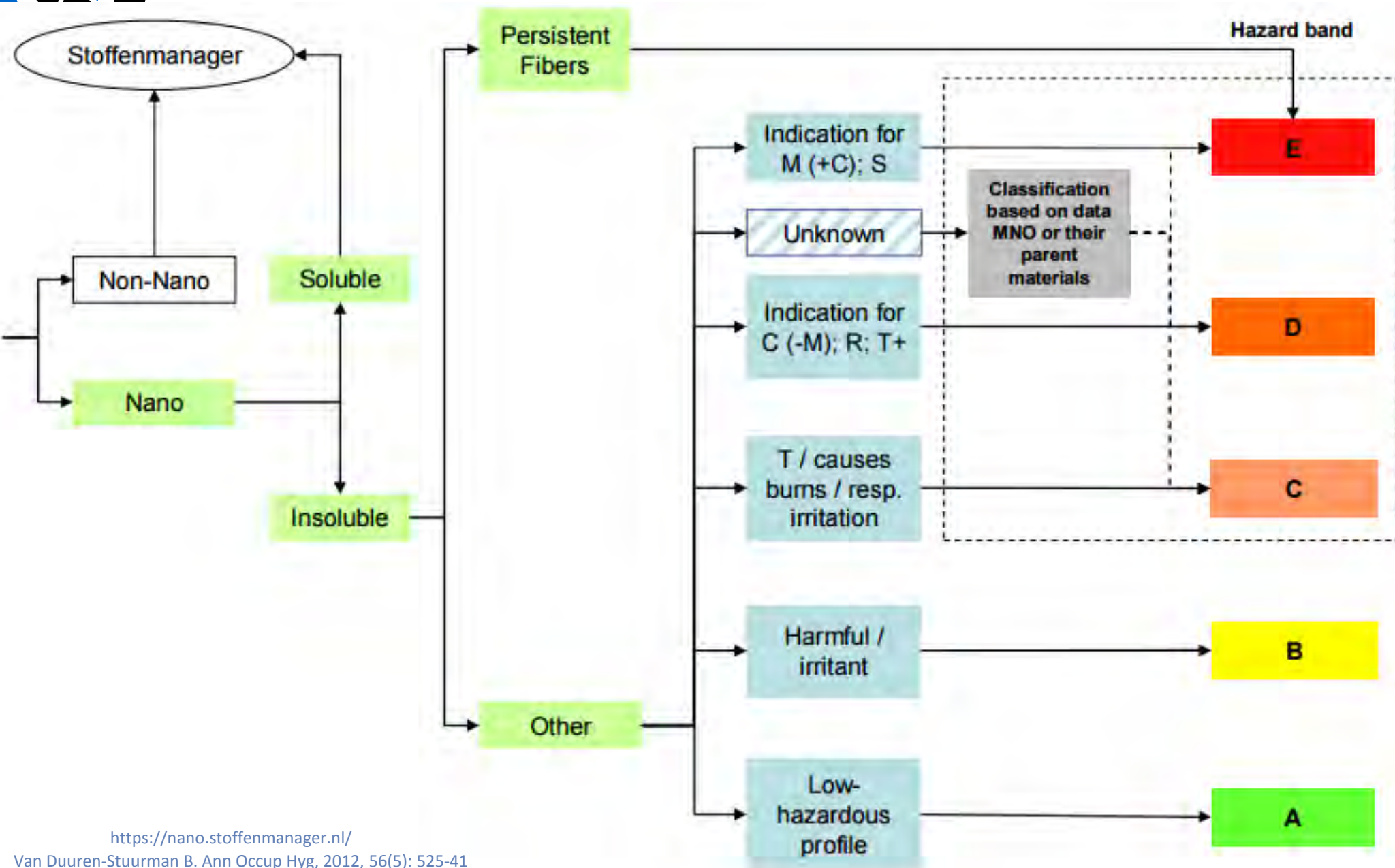


Schéma postupu pro aplikaci nástroje CB pro NM



Řazení do kategorie nebezpečnosti za použití Stoffenmanager Nano 1.0 Control Banding tool

Přehled Control Banding nástrojů pro NM



- ANSES CB Tool
- CB NanoTool
- ISO/TS 120901-2:2014
- IVAM Guidance
- LICARA nanoSCAN
- NanoRiskCat
- NanoSafer
- Precautionary Matrix for synthetic materials
- Stoffenmanager Nano**



Identifikace rizik (nebezpečnost x expozice)

Application of the qualifiers 'use, release and route of exposure' to determine 'hotspots' with likely occupational or consumer exposure.

Relevant life cycle stage for grouping		Production of NM			Formulation / Industrial use			Use			Disposal			
		Form	Release	Exposure	Form	Release	Exposure	Form	Release	Exposure	Form	Release	Exposure	
Route of exposure	Oral	Powder	No (industrial hygiene)	No	Powder	No (industrial hygiene)	No	Powder	Dependent on the use	Specific exposure groups (see below)	Powder	No release from ignition or disposal	No	
		Liquid	No (industrial hygiene)	No	Liquid	No (industrial hygiene)	No	Liquid	Dependent on the use	Specific exposure groups (see below)	Liquid	No release from ignition or disposal	No	
		Bound in matrix	No (industrial hygiene)	No	Bound in matrix	No (industrial hygiene)	No	Bound in matrix	Migration	High	Bound in matrix	No release from ignition or disposal	No	
	No migration								No					
	Dermal	Powder	No (industrial hygiene)	No	Powder	No (industrial hygiene)	No	Powder	Direct skin contact	Yes	Powder	No release from ignition or disposal	No	
									No contact	No				
		Liquid	No (industrial hygiene)	No	Liquid	No (industrial hygiene)	No	Liquid	Direct skin contact	Yes	Liquid	No release from ignition or disposal	No	
									No contact	No				
		Bound in matrix	No (industrial hygiene)	No	Bound in matrix	No (industrial hygiene)	No	Bound in matrix	Migration	High	Bound in matrix	No release from ignition or disposal	No	
									No migration	No				
	Inhalation	Powder	Dust	High dustiness	Powder	Dust	High dustiness	Powder	Dust	High dustiness	Powder	No release from ignition or disposal	No	
				Medium dustiness			Medium dustiness							
				Low dustiness			Low dustiness							
				No dust	No			No dust	No			No dust	No	
		Liquid	No (industrial hygiene)	No	Liquid	No (industrial hygiene)	No	Liquid	Liquid	Aerosol	Respirable droplets	Liquid	No release from ignition or disposal	No
										Inhalable droplets				
										Not inhalable				
		No aerosol	No			No aerosol	No			No aerosol	No			
Bound in matrix		No (industrial hygiene)	No	Bound in matrix	Abrasion/aging	Respirable particles	Bound in matrix	Abrasion/weathering	Respirable particles	Bound in matrix	No release from ignition or disposal	No		
						Inhalable particles								
						Not inhalable								
		No abrasion	No			No abrasion	No			No abrasion	No			

Opatření ke zmírnění rizik

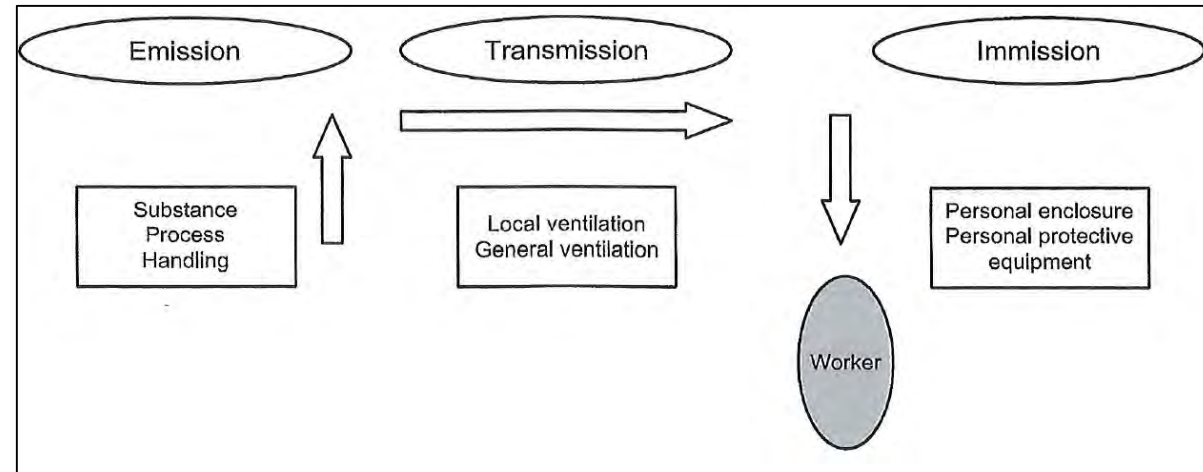


HIERARCHY OF CONTROLS

MOST
Effective
Reliable
Sustainable

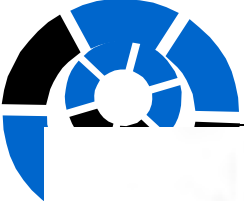


LEAST
Effective
Reliable
Sustainable



<https://forum.cyclinguk.org/viewtopic.php?t=111335&start=15>





Bezpečné zacházení s nanomateriály v laboratorních podmínkách



Precautionary principle

General



- Prevent dust or aerosol formation.
- Wear personal protection equipment.
- Use safety containers for transportation of nanoparticles.

Storage



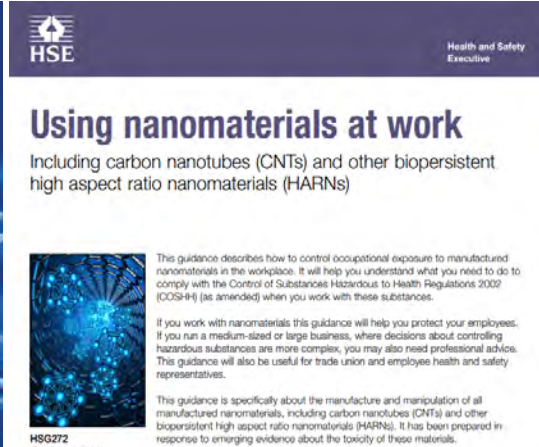
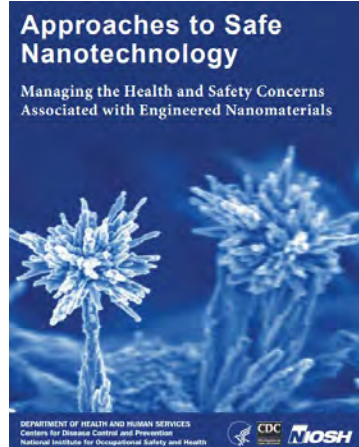
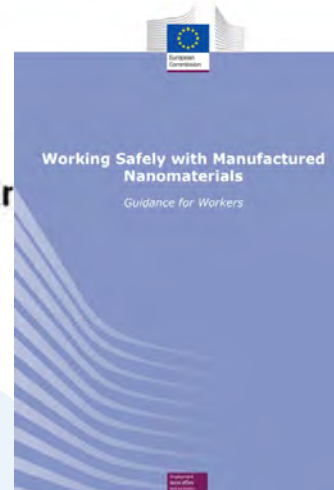
- Store in specific area and separate cabins.
- Cabinet must carry appropriate danger label.
- Labeling of nanoparticles should be similar to that for toxic, flammable, carcinogenic materials.

Disposal



- Nanoparticle bearing waste include:
- Pure nanoparticle powder / suspension.
 - Nanoparticle containing glassware etc.
 - Nanoparticle containing suspension.

↓
Waste disposal to be done similar to that of hazardous material.



Produkce nanomateriálů



Jezdíte autem?

Je tady nějaký producent nanomateriálů???

- Záměrná
- **Nezáměrná**
- Přirozená



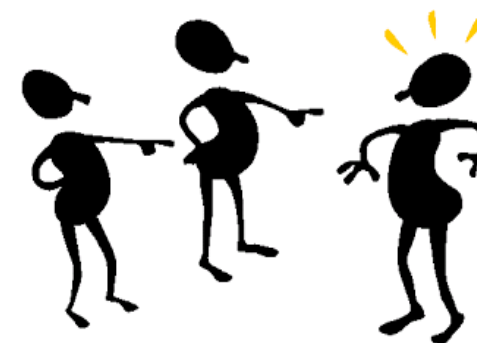
Vaříte?



Využíváte oheň?

ANO?...
Pak i Vy jste

Producent nanomateriálů!!



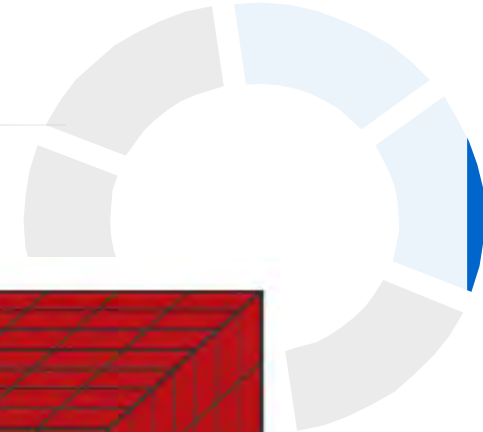
Zapalujete si svíčky?

activity type (no. of homes) ^a	avg. contrib. (SD) to the sum of exposures from all events (%) ^b
cooking (37)	43 (30)
toasting (12)	19 (21)
candle burning (28)	68 (30)

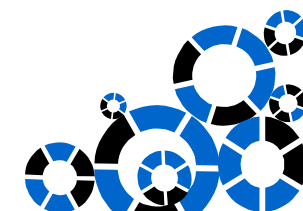
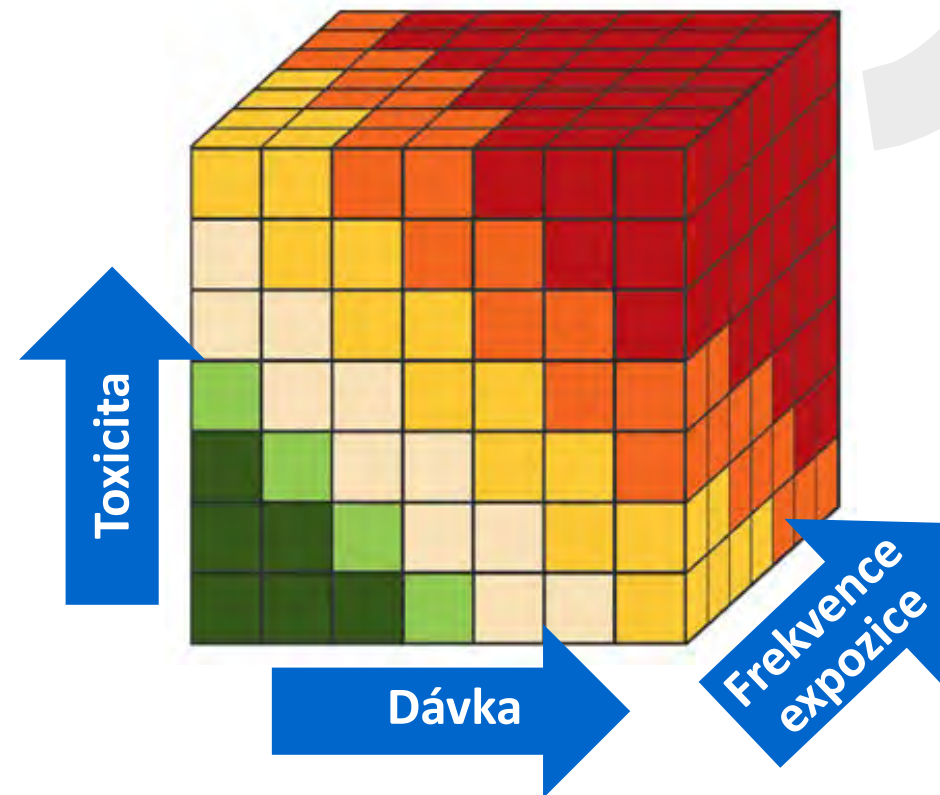




Toxicita v kontextu expozice



- V jaké formě jsou nanomateriály v produktu (pevně vázané v matrici / volně)?
- Jaký je způsob použití produktu?
- Jaká je expoziční cesta?
- Životní cyklus výrobku





Děkuji za pozornost



EKOMONITOR




Ústav
experimentální
medicíny AV ČR, v.v.i.
EU Centre of Excellence



tana.zavodna@iem.cas.cz

