

Rizika nanomateriálů a nanotechnologií pro lidské zdraví a životní prostředí

Dušan Nohavica

Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR, v. v. i., Chaberská 57, 182 51 Praha 8
Fyzikální ústav AV ČR, v. v. i., Cukrovarnická 10, 162 00 Praha 6; nohavica@ufe.cz

Celá řada spalovacích procesů včetně procesů probíhajících v přírodě vede k tvorbě ultrajemných částic (<100 nm) vznášejících se ve vzduchu. Existuje řada epidemiologických studií prokazujících jejich negativní vliv na respirační a kardiovaskulární systém u náchylné části populace. V tomto přehledu jsou současně diskutovány antibakteriální a ekotoxické vlastnosti vybraných uměle připravených nanočástic. V závěru se dotýkáme otázky bezpečnosti jejich přípravy a užití.

Úvod

O bouřlivém rozvoji nanotechnologií se mluví hlavně v souvislosti s pracemi z posledních 10–20 let. Lidstvo přicházelo do styku s nanočásticemi odpradáva. Práčlověk inhaloval nanočástice při sopečných erupcích a požárech. Zlaté (Au) a stříbrné (Ag) nanočástice byly v Persii používány již v 10. století před naším letopočtem k výrobě keramických třpytivých glazur hrajících duhovými barvami. Tato technika byla ve 14. století zdokonalena na území Španělska, odkud se pak rozšířila do celé Evropy. Před 5 000 lety byly v Egyptě používány nanočástice zlata k duševní i tělesné očistě. Ve všech těchto případech lidé netušili, že používají nanočástice ve smyslu jejich současné rozměrové specifikace. Je pravděpodobné, že pravěká znečištění životního prostředí přispěla ke vzniku samočisticích mechanismů pomáhajících chránit naše plíce do současnosti.

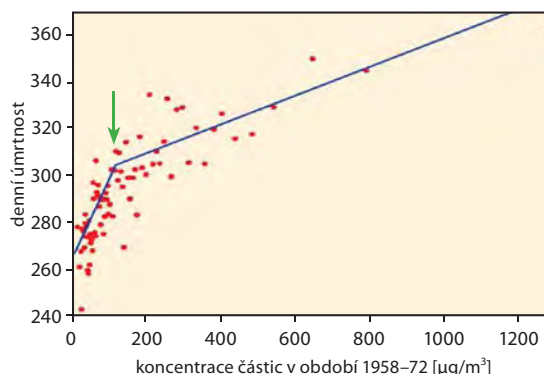
Nanočástice je účelné dělit na ty, které vznikají jako nežádoucí produkt jiného procesu, např. hoření benzínu, plynu nebo nafty ve spalovacích motorech, při domácím topení, v leteckých motorech, spalovnách odpadu, vulkanické činnosti atd., a na uměle připravené pro určitou aplikaci. V prvním případě jde o významné znečištění životního prostředí s možnými zdravotními komplikacemi pro obyvatele znečištěné oblasti. Kromě nanočástic je každoročně znečišťováno životní prostředí chemikáliemi ovlivňujícími negativně kvalitu půdy, vod a ovzduší. Ty podporují vznik různých forem rakoviny, vrozených poruch a reprodukčních abnormalit jak u zvířat, tak i u lidí.

V oboru nanotechnologií byly vyvinuty metodiky měření koncentrace těchto nanočástic (tj. částic s charakteristickým rozměrem menším než 100 nm) a jsou studovány i procesy jejich vnikání do organismu, uklá-

dání v důležitých orgánech a zdravotní důsledky tělní kontaminace. Toxicita nanočástic připravených pro určitou aplikaci musí být známá ještě před jejich praktickým využitím.

Plicní kontaminace

Plíce jsou při inhalaci nanočásticemi nejhůře postiženým orgánem z hlediska množství uchovaného materiálu. Po hodinové inhalaci 15 nm iridiových nanočástic bylo v plicích pokusných krys zjištěno až $7 \cdot 10^{11}$ částic. V játrech, slezině, srdci, mozku a ledvinách bylo zjištěno množství iridia o 2–3 řády nižší [1]. Dýchání je nejvýznamnější cesta pro vstup nanočástic

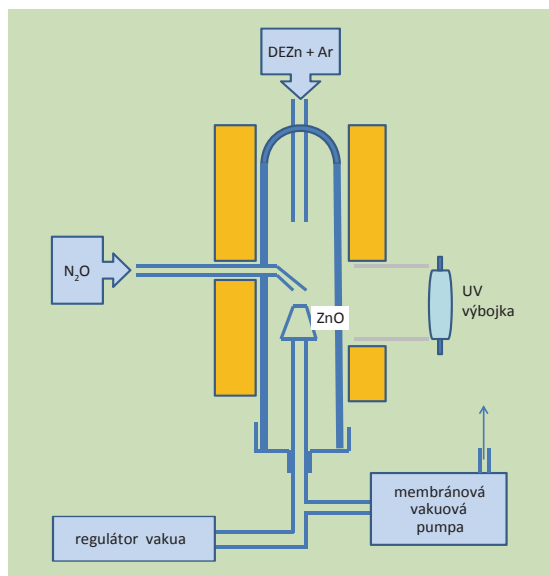


Obr. 1 Vliv znečištění vzduchu převážně z topení uhlím na denní úmrtnost obyvatel Londýna během smogových období v letech 1958–72 (údaje podle [52] grafické zpracování podle „Nanotoxicology“, G. Oberdorster, E. Oberdorster a J. Oberdorster.) Koagulace v tzv. akumulačním modu je 10–100× rychlejší než homogenní koagulace nanočástic. Přechod od pomalé koagulace k rychlé je označen šipkou. Při akumulaci částic do větších útvarů se přírůstek denní mortality zpomaluje.

do organismu s cílovým orgánem – plicemi, velmi citlivými k toxinům. Při vdechování částic větších než 10 μm dochází k jejich zachycení sliznicí na skořepě nosní. Částice mohou být ze sliznice přemístěny rytmickým pohybem záchytných bičků do úst. Částice menší, zvláště nanočástice s rozměrem pod 100 nm, zůstávají v proudícím vzduchu jdoucím do průdušek lalokových a segmentálních a následně difundují stále jemnějšími průduškami do plicních sklípků, odkud jsou postupně odstraňovány fagocytózou. Přitom mohou být částice degradovány nebo jsou „hlenovým eskalátorem“ vyplavovány. Je-li hlenový eskalátor soustavně přetěžován, zvětšuje se počet hlenových žláz a buněk vylučujících hleny, což se děje u kuřáků nebo při inhalaci dráždivých substancí a vzniká dispozice k bronchitidě. Je-li množství částic příliš velké s ohledem na fagocytární činnost alveolárních makrofágů, dochází k zánětům a alveolární destrukci s následnou fibrózou [2].

Inhalované nebiologické částice jsou hlavní příčinou lidských plicních onemocnění s toxicitou závislou na jejich rozměru, složení, dávce, délce expozice a vnímavosti subjektu. Inhalace minerálního prachu, často v průběhu mnoha let, vede ke vzniku pneumokoniózy v případě uhelného prachu a silikózy při inhalaci kamenného prachu, kdy vzniká fibróza a v plicích se tvoří dutiny. V případě inhalace azbestu se tvoří plicní fibróza, ale podstatně závažnější je mezoteliom pleury (rakovina pohrudničních mezoteliálních buněk) a rakovina plic. U pracovníků s poměrně intenzivním stykem s azbestem vedoucím ke vzniku fibrózy (azbestózy) je důležitější koncentrace inhalovaných vláken než jejich délka, tloušťka, velikost povrchu a hmotnost. Modifikace azbestu amosit je podstatně fibrogeničtější než chryzotil a tremolit [3]. Mezoteliom, který se nejčastěji vyskytuje u rodinných příslušníků pracovníků s azbestem, vzniká při velmi nízké koncentraci azbestových vláken a silně závisí na kombinaci tloušťky a délky vláken [4, 5]. Krocidolit je nejaktivnější mutagení formou azbestu měnící DNA mezoteliálních buněk indukci oxidů dusíku [6, 7].

Další příklad negativního vlivu inhalovaných částic na zdraví souvisí se znečištěním venkovní atmosféry kouřem z domácího i průmyslového spalování



Obr. 3 Schéma aparatury na přípravu ZnO vrstev technologií MOVPE při sníženém tlaku.

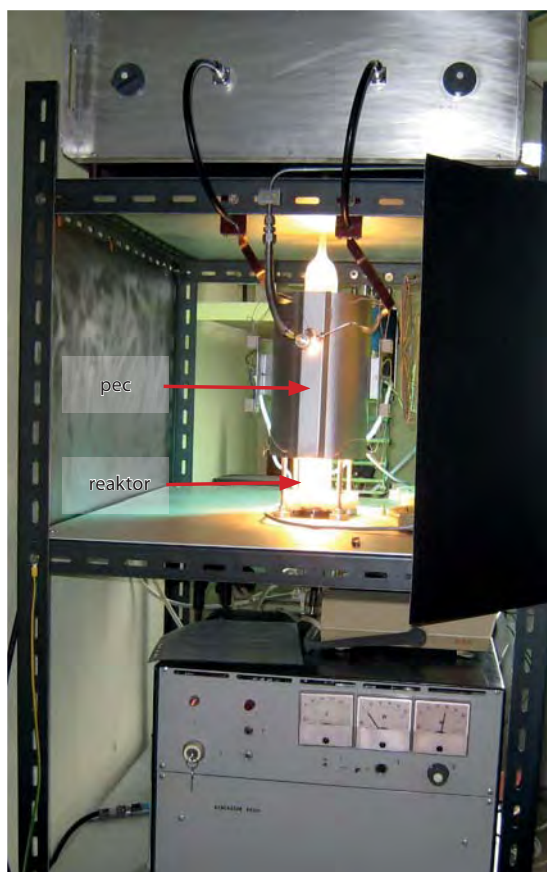


Obr. 2 Nanočástice Fe(0) v kontaktu se vzdušným kyslíkem demonstrují velkou reaktivitu nanočástic v produktu NANO FER 25 N, české firmy NANO IRON, s. r. o.

uhlí, viz obr. 1. Dvě různé směrnice uvedené závislosti byly interpretovány jako vliv nekoagulovaných nanočástic v počáteční fázi, který se zpomalil v důsledku jejich koagulace do větších, méně reaktivních útvarů. Přísnými regulačními opatřeními byl tento druh znečištění ve Velké Británii potlačen, což se projevilo výrazným snížením kardiorespiračních onemocnění [8, 9]. V podmínkách městských aglomerací byly průmyslové zdroje znečištění vystřídány dopravními prostředky. Ty jsou dnes ve městech hlavním zdrojem znečištění vzduchu mikro- a nanočásticemi, zejména při spalování v dieselových motorech a sekundárně v důsledku chemických reakcí v atmosféře s plynnými produkty spalování [10, 11]. Celosvětově prováděné epidemiologické studie vyjasňují příčinu působení a relaci mezi akutním a chronickým vlivem částicových polutantů na respirační nemoci, jako je zápal plic, aktivace obstruktivní plicní choroby a astma [12, 13]. Jako mimořádně závažný se ukazuje kardiovaskulární vliv inhalovaných částic, kterému je podle práce [14] jenom ve Velké Británii přičítáno na vrub 23 000 úmrtí ročně s jednoznačnou vazbou na expozici mikro- a nanočásticemi. Ultrajemná frakce částicových polutantů se rozhodující měrou podílí na zjištěné úmrtnosti jak respiračními nemocemi, tak kardiovaskulárními případy jako infarkt myokardu, srdeční arytmie a mozkové příhody [15]. Také spouští uvolnění ultrajemných částic z epitelu respiračního traktu do cirkulace v organismu, kde působí jako patogeny různých nemocí [2]. Reaktivita nanočástic souvisí s nárůstem povrchové energie o mnoho řádů při zmenšování objemu částic do nanorozměrů. Poměrně efektivní ukázka vysoké reaktivity nanočástic elementárního železa, připraveného českou firmou Nano Iron je na obr. 2. Toxický vliv nanočástic je podmíněn přechodem epiteliální bariéry. V případě plic hraje významnou tlumící roli aglomerace nanočástic do větších útvarů pronikajících tkání obtížněji. Roz-

» Nanočástice je účelné dělit na ty, které vznikají jako nežádoucí produkt jiného procesu, např. hoření a na uměle připravené pro určitou aplikaci. «

» Reaktivita nanočástic souvisí s nárůstem povrchové energie o mnoho řádů při zmenšování objemu částic do nanorozměrů. «



Obr. 4 Experimentální uspořádání reaktoru ve vertikální peci.

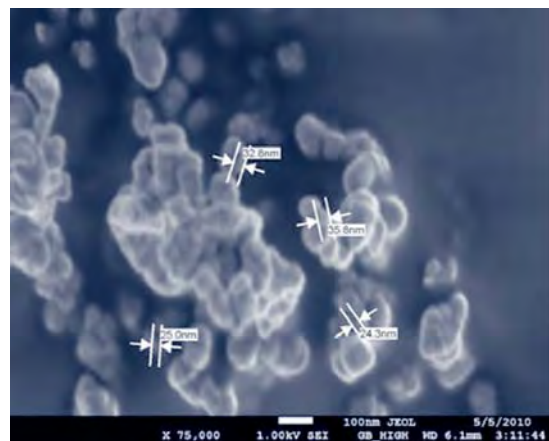
měry aglomerátů závisejí na řadě faktorů (povrchový náboj, přítomnosti vhodného disperzního činidla nebo adsorpci na bílkoviny). Nanočástice mohou také aktivovat makrofágy k sekreci enzymů způsobujících záněty. Přímé experimenty zaměřené na studium průchodnosti inhalovaných nanočástic do tělní cirkulace byly provedeny i na zdravých lidských dobrovolnících [16]. Ti inhalovali uhlíkové nanočástice s rozměrem 5–100 nm označené izotopem ^{99m}Tc . Potvrdilo se poměrně rychlé rozšíření značených nanočástic do jater a jiných částí těla, i když použitá technika není příliš spolehlivá, s ohledem na nízkou stabilitu uvedeného značkovacího na nanočástici. Vyjasnění tohoto problému je mimořádně důležité pro posouzení škodlivosti různých polutantů, ale značný význam má i pro rozvoj nových léčebných technik. Průchodem přes epitel respiračního systému lze do cirkulačního systému dopravit určitá léčiva jako inzulin inhalací s přesným dávkováním [17]. Tyto látky mohou vstupovat do komplexů usnadňujících průchod mezibuněčnými hranicemi v epitelu [18, 19].

Další epiteliální povrchy, jimiž nanomateriály vstupují, jsou v zažívacím traktu, oční spojivky a kůže. Struktura epitelu v zažívacím traktu se liší od traktu respiračního především s ohledem na transport výživy realizovaný transbuněčně i parabuněčně. K posouzení celkové prostupnosti pro nanočástice platí stejná pravidla, že rozhodující je složení částic a povrchové charakteristiky epitelu. Pokrok byl dosažen v systému dodávky léčiv, jež by bez ochrany byla rozložena trávicími enzymy. I v tomto případě jde mimo jiné o perorální podávání inzulinu [20]. Při experimentech na kryších krmených 10 dnů přídatkem 50nm polystyrenových mikrosfér označených izotopem I^{125} prošlo přes stěny zažívacího traktu 34 % částic, jež byly dále transporto-

vány lymfatickým systémem do jater a sleziny. V plicích a srdci nebyly zjištěny [21].

Kůže je obecně považována za bezpečnou ochranu před průnikem částic z kosmetických přípravků a opalovacích krémů [22]. Při styku s nanočásticemi velmi malými a/nebo vysoce reaktivními by měla být kožní ochrana prověřena. Tento problém je o to složitější, že individuální variace ve spolehlivosti kožní ochrany jsou geneticky podmíněny v klastru na chromozomu 1q (epidermální diferenační komplex) [23]. Příkladem může být genetická vada, vyskytující se u 9 % populace, způsobující suchou pleť a vrozený sklon k alergickým ekzémům [24]. Stejně i u respiračních epitelů může být jejich integrita narušena, což v obou případech zvětšuje jejich prostupnost pro mikro- a nanočástice s následným rizikem systémové toxicity způsobující ekzémy, astma, celiakii a zánět střev [25, 26]. Spojivkový epitel ve vnějším oku je velmi dobře průchozí pro nanočástice, jeho výzkum je spíše zaměřen na transport léků než do oblasti studia toxicity [2].

Z hlediska toxického působení je důležitý rozměr částic a s ním související reaktivita povrchu a chemické složení. Velmi zajímavý experiment je popsán v práci [27], kde byl studován nitrobuňkový oxidační proces po expozici lidských plicních epiteliálních buněk Fe-, Co-, Mn- a Ti- legovanými křemennými nanočásticemi *in vitro*. Výsledkem tohoto velmi pečlivě provedeného experimentu bylo zjištění, že nanočástice se do buněk dostávaly mechanismem „trojského koně“ a vyvolávaly 8× větší oxidativní stres (v případě Co a Mn), než když byla identická tkáň exponována vodným roztokem stejných kovů. Studium nanočástic obsahujících železo ukázalo, že katalytická aktivita významně zvyšuje destrukční aktivitu nanomateriálů. Pro složení těchto nanočástic, jež byla v práci [28] studována, je toxicita určena velikostí jejich povrchu, který dobře koreluje s jejich schopností vyvolávat oxidativní stres a aktivovat buňky k vyvolání zánětů. Oxidativní stres se jeví jako možný marker pro určení toxicity nanomateriálů, případně rizika poškození DNA [28]. Bez ohledu na typ buněk nanočástice pronikají vnější membránovou obálkou mitochondrií a tím odstartují předčasnou naprogramovanou buněčnou smrt (apoptózu) [2, 29, 30]. Oxidativní poškození vnějších i vnitřních buněčných membrán



Obr. 5 Nanočástice ZnO připravené neúmyslně při rychlé depozici ZnO na podložce Si z plynné fáze technologií MOVPE. Nanočástice se kumulují podél vnitřní kondenzační křemenné roury a vznášejí se v plynné fázi i poměrně daleko za pecí.

lipidovou peroxidací vede k vysokému podílu prozá-
nětlivých a profibróznic procesů způsobených na-
nomateriály [31], zatímco průnik do buněčného jádra
a interference s genetickými a epigenetickými částmi
buňky vede k toxickému působení na buněčné dělení
[32]. Řada experimentů prováděných *in vitro* je za-
měřena na vyjasnění možných mechanismů působení
nanočástic na důležité buněčné struktury. Přitom
korelace mezi *in vivo* a *in vitro* testy je obvykle nízká
[2]. Expozice lidského alveolárního epitelu nanočás-
ticím TiO_2 , Ag, Al, Zn a Ni v průběhu 24 hodin vy-
volala řádově jiné tendence k vyvolání morfologické
destrukce a buněčné destrukce, generaci reaktivního
kyslíku a fragmentaci DNA [33]. V *in vivo* tes-
tech se uplatňuje řada dalších faktorů jako předběžná
akumulace zkoumaných částic ještě před započítáním
testu, nanočástice se mohou dostat do lymfatického
a krevního systému přímo a tím obejít makrofágy
s jejich čistící funkcí.

Velmi důležitá je otázka adaptace organismu na zne-
čištění nanočásticemi. Dřívější experimenty s krysami
dýchajícími výpary polytetrafluorethylenu zahřátého
na 480°C zabily pokusné krysy do 4 hodin po 15mi-
nutové expozici. Krysy, které se v této atmosféře na-
cházely tři dny předem po dobu 5 minut, 15minuto-
vou expozici přežily. V teoreticky velmi fundovaných
studiích, na které jsme se dosud odkazovali v souladu
s přehledem [2], jsme se explicitně s popisem možného
mechanismu adaptace nesetkali. Jeho experimentální
potvrzení v tom rozsahu, jak jsme uvedli v přípa-
dě krys exponovaných výpary PTFE, by mělo zásadní
význam. Zajímavá je i rychlost akumulace nebo aglo-
merace těchto částic, které z původních 18 nm během
3 minut zvětšily svůj rozměr na více než 100 nm a pře-
staly být toxické [34].

Zdroje nanočástic

Pro běžného občana jsou nanočástice to, co je umě-
le vyráběno v laboratořích a továrnách. Skutečnost
je zásadně jiná, jak vyplývá i z předchozího textu.
Největším zdrojem částicové kontaminace jsou au-
tomobily se spalovacími motory, zejména dieselvými.
V blízkosti dálnic byla určena koncentrace nano-
částic i v našich podmínkách na úrovni milionu
částic na krychlový centimetr [53, 54, 55]. Negativní
vliv automobilových emisí na lidské zdraví je velmi
komplexní, protože jde o směs různých částic a ply-
nů. Experimentální pozorování prováděná v různých
oblastech vedou k identickému závěru, že kardiovas-
kulární, respirační a případná další onemocnění sou-
visející s tímto znečištěním již překonávají mortalitu
a dlouhodobé nemoci způsobené kouřením, které je
samo o sobě zdrojem obrovského množství nanočástic
vdechovaných do plic [35, 2]. Zdá se, že podobný vliv
na zdraví s použitím uměle připravených nanočástic
je obtížně představitelný. V poslední době bylo publi-
kováno několik prací, z nichž nejrozsáhlejší jsou refe-
rence na výsledky studia v UCLA (University of Cali-
fornia in Los Angeles), kde byl zjištěn vliv nejméně
frakce částic z výfukových plynů. Způsobuje tvorbu
arteriálních povlaků deaktivujících ochrannou funk-
ci HDL („hodného cholesterolu“) a arterie tvrdnou.
Jejich mechanické poškození vede k již zmíněným ne-
mocem a úmrtím [36].

Podobně jako produkty spalovacích motorů se cho-
vají i produkty tryskových motorů v letadlech s jedi-



Obr. 6 Kontrola obsahu nanočástic v prostoru digestoře a před digestoří je prováděna dvěma hadičkami s možností kontinuálního odběru vzduchu. (Z přednášky prof. Savolainenena v Praze, 2010, [51]).

ným rozdílem, že při letu ve velkých výškách může za dobu spadu, která je poměrně dlouhá, dojít ke koagulaci těchto částic do větších celků s menší toxicitou. Dá se předpokládat, že jiná by mohla být situace po startu a před přistáním letadel. Další zdroje jsou emise z elektráren spalujících uhlí, olej nebo plyn, spalovny odpadu, lesní požáry, vulkanická činnost, dým generovaný při svařování atd. Množství velmi jemných částic produkovaných na západním pobřeží USA v okolí Los Angeles z hlavních zdrojů znečištění je odhadováno na 13 tun denně.

U uhlíkových nanotub, které jsou vyráběny ve velkých množstvích (více než 120 tun ročně), jsou za nejnebezpečnější považovány tuby s jednou stěnou (SWCNT) oproti tubám s více stěnami (MWCNT). Bylo zjištěno, že jejich toxicita v buňkách alveolárního epitelu je enormně zvýšená stopami kovů [37]. U MWCNT bylo publikováno předběžné podezření na generaci rakoviny a mesotheliomy obdobně jako v případě azbestu. Experiment vedoucí k těmto závěrům byl pravděpodobně prováděn na univerzitě v Edinburghu na myších s různě dlouhými nanotubami. U MWCNT s délkou 20 μm , s poměrem šířky a délky obdobným jako u azbestu byly pozorovány příznaky předcházející zhoubnému bujení. Pozitivním výsledkem této studie je, že zamotané agregáty uhlíkových nanotub, vyskytující se ve většině komerčně vyráběných vzorků, se nechovají jako azbest [38].

Pozoruhodnou vlastností fullerenu (C_{60}) je jeho schopnost bránit vzniku amyloidových vláken tvořících v mozku neurodegenerativní povlak. Nanočástice mohou být rovněž použity k chelačnímu zachytu stopových kovů nebo k depozici thioflavinů v amyloidové vrstvičce jako alternativní možnost v léčení Alzheimerovy nemoci [39].

Velmi rozšířené jsou alergie na rostlinné pyly a některé potraviny. Příčiny alergií jsou poměrně složité a jejich rozbor vychází za rámec diskutovaného tématu. Velmi zajímavá pozorování byla prováděna v USA. Dětem trpícím alergií se všechny příznaky nemoci prudce zhoršily po přemístění do blízkosti dálnice. Znečištění vzduchu dopravními prostředky je



Obr. 7 Dokonalá ochrana pracovníka s vlastním přívodem vzduchu při práci s nebezpečnými objekty. (Z přednášky prof. Savolainenena v Praze, 2010, [51]).

podstatně komplexnější než prosté znečištění ovzduší nanočásticemi. Je zvýšen obsah organických látek, zejména polycyklických aromatických uhlovodíků (česky PAU, anglicky PAH), oxidů uhlíku, síry a dusíku, iontů těžkých kovů a dalších stopových prvků. Důsledkem je cytotoxicita, mutagenita a karcinogenita. Mezi PAH byl za nejhorší považován 1,2-benzpyren (karcinogen třídy A). Podle nových zjištění je karcinogenita dibenzopyrenu ještě 100× a dibenzoantracenu 5× vyšší [41]. Usazování emitovaných polutantů na fasádách historických staveb přispívá k jejich poškozování [42].

Poměrně rozsáhlé studium znečištění ovzduší bylo prováděno v Číně. Sledovány byly rozptýlené velmi jemné částice, oxidy síry a dusíku [43]. S přítomností těchto polutantů jednoznačně souvisel i uvedený výskyt kardiovaskulárních nemocí. Zvýšení obsahu jemných částic, SO_2 a NO_x o $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ vedlo k odpovídajícímu vzrůstu kardiovaskulární mortality o 0,9, 3,2 a 2,3 %. Tento výsledek je v souladu se současným vědeckým názorem American Heart Association o vlivu krátkodobé i dlouhodobé expozice vzdušným polutantům na kardiovaskulární nemoci a úmrtí [44]. Jejich působení je přímé a nepřímé. Za přímé je považován průchod zejména oxidů dusíku a jemných prachových částic se stopovým obsahem těžkých kovů přes plicní epitel do oběhového systému. Nepřímé působení spočívá ve vytváření plicního oxidativního stresu a zánětů ústicím v poškození endotelu a ztrátu jeho funkčnosti s následným systémovým zánětem. Přímé i nepřímé působení vede k aktivaci hemostatického schématu a vaskulární dysfunkci.

Baktericidní a ekotoxické působení nanočástic

K nejvíce používaným nanomateriálům patří TiO_2 , Ag a ZnO , u nichž je studováno i jejich toxické působení například na bakterie *Escheria coli*, *Staphylococcus aureus*, cyanobakterie (fytoplankton) *Anabaena flosaquae*, řasy *Euglena gracilis* a jiné. Největší pozornost je věnována jejich toxickému působení na bakterie, které mají schopnost kolonizovat téměř libovol-

né povrchy a tvořit tzv. biofilm. Ten obsahuje různé bakterie a jeho odolnost vůči antibiotikům je vyšší než odolnost jeho jednotlivých bakteriálních složek. K antibakteriální ochraně jsou používány různé postupy. Nanočástice mohou být umístěny do polymerní matrice, která má dobrou adhezi k chráněnému povrchu. Místo polymerů je možné použít uhlíkové částice s diamantovou strukturou, jejichž výhodou je mechanická stabilita a biologická netečnost [45]. Technologické postupy přípravy a složení antibakteriálních povlaků jsou velmi důležité z řady praktických důvodů. Celosvětově jsou velkým problémem tzv. nemocniční infekce, v jejichž důsledku umírá ročně jenom ve Velké Británii 5 000 lidí a roční náklady na boj s těmito infekcemi dosahují jedné miliardy liber. Nejpostiženější je močový trakt, jehož infekce dominují s 80 % podílem katetrů. Katetry a jiná obdobná zařízení jsou odpovědná za 60 % infekcí v krevním oběhu. Tyto „katetrové“ infekce jsou odpovědné i za většinu vaskulárních infekcí. V USA dosahuje roční objemná „krevních“ katetrů 150 milionů kusů a jejich použití vede k 200 000 katetrových infekcí. Počet katetrů napojených na močové cesty je jenom v USA 5 mil. kusů ročně a způsobuje více než 40 % všech nemocničních infekcí. Obdobná je situace ve všech vyspělých zemích [46].

Nanočástice stříbra patří k nanomateriálům, které svým antibakteriálním působením dávají naději na úspěšné řešení těchto problémů. Navíc se mohou uplatnit při léčbě řady nemocí včetně AIDS. Jejich antimikrobiální aktivita vede ke snížení rizika infekcí u popálenin a je vhodná i jako prevence proti bakteriální kolonizaci různých povrchů včetně katetrů, protéz a lidské kůže. Přesto, že možných aplikací nanostříbra je celá řada, musí být současně posouzena i možná zdravotní rizika z jejich použití. Bylo zjištěno, že Ag nanočástice zhoršují mitochondriální funkci, posilují tvorbu reaktivního kyslíku, spotřebovávají antioxidanty. Reaktivní kyslík může způsobit i poškození DNA a následnou cytotoxicitu [47]. Působení Ag nanočástic v živém organismu se může zásadně měnit podle množství nanočástic – což se děje např. při působení na cévní endotel. Experimenty prováděné s různými nanomateriály ukazují, že inhalované nanočástice se mohou dostat do mozku podél čichových nervů. V případě Ag nanomateriálů následuje cytotoxicita a snížení množství neurotransmiteru dopaminu v mozku s odpovídajícími negativními důsledky. Při větší expozici byla pozorována toxicita působící na různé orgány jako plíce, játra a mozek [48].

Nanočástice TiO_2 jsou obecně považovány za méně toxické, ale jejich produkce, odhadovaná na 5 000 až 6 400 tun ročně a používaná jako přísady do nátěrových hmot, plastů, papíru, inkoustů, potravinových barviv, zubních past a pleťových krémů, musí být zkoumána. Z dosavadních výzkumů se soudí, že jeho hlavní negativní vliv se projevuje v plicích formou zánětů, ale jeho přítomnost byla pozorována i v ledvinách, játrech a mozku. Zánětlivé procesy jsou částečně způsobovány generací reaktivního kyslíku, jež vždy vzbuzuje obavy s ohledem na možné maligní změny. Odpovědnost za jeho generování je připisována plicním mitochondriím, ale přesný mechanismus působení nanočástic TiO_2 na mitochondrie není dosud znám [49].

Nanočástice ZnO jsou rovněž široce využívány, a to jako pigmenty, senzory, výhledově jako složky fotovoltaičkových článků, transparentní elektrody, sluneční filtry apod. Prakticky je velmi zajímavé jejich antibakteriální působení.

V tab. 1 [50] je na základě experimentálních výsledků různých autorů provedeno srovnání toxického působení antibakteriálních nanočástic TiO₂, CuO, ZnO, Ag, uhlíkových nanotub a fullerenu (C₆₀) na sedm druhů ekologicky významných organismů. Je zřejmé, že tzv. antibakteriální aktivita nanočástic koreluje s jejich ekotoxickou. Závažným důsledkem těchto zjištění je, že tkaniny s nanostříbrem, které se praním vymývají, nebo některé potraviny s životností prodlouženou nanesením nanočástic na jejich povrch by byly významným zdrojem znečištění životního prostředí prostřednictvím odpadních vod.

Jako jeden z nejdůležitějších pro posouzení toxicity je údaj o množství toxické substance. Je zřejmé, že řada látek je v malém množství naprosto netoxická a s rostoucím množstvím se začíná projevovat jako toxická. V tab. 2 jsou uvedeny doporučené limity pro expozici lidského organismu několika vybraným, poměrně důležitým nanomateriálům. Tato tabulka byla sestavená z údajů prezentovaných na pražské konferenci o nanobezpečnosti P. Sayerem [40].

Určení přípustných dávek je podstatně komplikovanější v případech, kdy jsou nanočásticové produkty používány k léčebným účelům. Jako příklad lze uvést Ag nanočástice, které mohou v některých případech nahradit nefunkční antibiotika. Toxicita nanostříbra je již dobře prozkoumána a rozhodně není zanedbatelná. Proto při jejich léčebné aplikaci musí být zvažována míra rizika poškození organismu, např. apoptózou jaterních buněk. I když technologové nacházejí cesty, jak připravit produkty s menšími ne-

№	Skupina organismů	Neorganické nanočástice				Organické nanočástice			Nejtoxičtější nanočástice
		mg TiO ₂ /l nano TiO ₂	mg ZnO/l nano ZnO	mg CuO/l nano CuO	mg Ag/l nano Ag	mg/l SWCNT	mg/l MWCNT	mg/l C ₆₀	
1	korýši	67,7 (10)	0,62 (3)	2,65 (2)	0,04 (1)	15,0 (3)	8,7 (1)	35,0 (5)	nano Ag
2	bakterie	603 (4)	20 (3)	71 (2)	7,6 (5)	163 (2)	500 (1)	0,81 (4)	C ₆₀
3	řasy	65,5 (4)	0,068 (2)	0,87 (1)	0,23 (2)	1,04 (1)	–	100 (1)	nano ZnO
4	ryby	300 (4)	1,9 (2)	–	7,1 (1)	–	–	1,0 (3)	C ₆₀
5	prvoci řasnatí	–	5,4 (1)	156,5 (1)	39,0 (1)	6,8 (1)	–	0,25 (1)	C ₆₀
6	červi	80,1 (1)	2,24 (1)	–	–	–	–	–	nano ZnO
7	kvasinky	20 000 (1)	121,2 (1)	20,5 (1)	–	–	–	–	nano CuO
1–7 počet exp. dat		24	13	7	10	7	2	14	
nejnižší dávka nanočástic		65,5	0,068	0,87	0,040	1,04	8,7	0,25	
1–7 nejcitlivější organismus		řasy	řasy	řasy	korýši	řasy	korýši	prvoci řasnatí	
klasifikace		škodlivý	extrém. toxický	velmi toxický	extrém. toxický	toxický	toxický	velmi toxický	

Tab. 1 Akutní ekotoxicita vybraných nanomateriálů [50].

gativními projevy, vybalancování dávkování bude muset dělat odborník, kterým by měl být odborně připravený lékař.

Ochrana technologických pracovišť

Při vývoji přípravy speciálních nanočástic jsou potenciálně ohroženi výzkumní pracovníci, kteří se tomuto úkolu věnují s poměrně hlubokými znalostmi „nanoproblematiky“, ale bez potřebných bezpečnostních informací. Příprava je zajišťována převážně ve fyzikálních a chemických ústavech, kde obvykle není snadný přístup k odborným časopisům s tematikou toxicity. Všechna technologická pracoviště se snaží před možnými riziky ochránit různými vzduchotechnickými systémy, filtrací vzduchu atp. V této souvislosti bych rád upozornil na dvě věci, jež jsou či mohou být důležité.

Na našem pracovišti je mimo jiné využívána technologie depozice ZnO z plynné fáze na monokrystalických podložkách. Námí postavená aparatura (obr. 3 a 4) zajišťuje dávkování výchozích látek do rozehrátého reakčního prostoru v ochranné atmosféře argonu. Reakce probíhá při výrazně sníženém tlaku v reaktoru, takže komponenty reagují v krátkém čase a čerpací systém je rychle transportuje do studené části zařízení mimo pec. V plynné fázi za peci jsme identifikovali velké množství nanočástic ZnO s rozměrem do 25 nm, jak je vidět na obr. 5. Pokud je vakuové čerpání „suché“, proletí nanočástice i čerpacím systémem a mohou kontaminovat laboratoř nebo odvětráváním znečišťují okolí pracoviště. Tento fakt by měl být zohledněn při konstrukci zařízení, aby bylo na výstupu z aparatury vybaveno kapalinovým pohlcovačem. Přesto je nutné vzít v úvahu, že po otevření reaktoru se část nanočástic z kondenzační zóny za peci dostane do laboratorní atmosféry na držáku podložek. Obdobné problémy mohou existovat i u jiných metodik přípravy materiálů z plynné fáze, včetně napařovacích technik. Dosud neznáme případ zdra-

Průměrný limit pro osmihodinový pobyt, pokud není uvedeno jinak
Saze: 3,5 mg/m ³ PEL (navržený expoziční limit)
Oxid titaničitý: Na základě údajů o karcinogenitě velmi jemného nanoprášku (s rozměry 15–40 nm), které byly získány při experimentech na kryších (Heinrich aj. 1995), odvodil National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) 2005 limit z předpokladu o zvýšení rizika rakoviny plic po 45 letech expozice při práci s TiO ₂ o 1/1 000 a doporučil 0,1 mg/m³ jako expoziční limit při 10hodinové denní expozici a 40hodinovém pracovním týdnu, při práci s TiO ₂ práškem jemnějším než 100 nm.
TiO₂ 1,5 mg/m³ bylo navrženo jako doporučený expoziční limit (REL) pro jemný prášek oxidu titaničitého, (NIOSH 2006).
Křemen: 0,10 mg/m³ PEL pro křemen (OSHA), 0,05 mg/m³ PEL pro kristobalit (OSHA), 0,05 mg/m³ PEL pro tridymit (OSHA)
MWCNT 0,05 mg/m³ (J. Pauluhn: Reg. Tox. Pharm. 57, 78 (2010))
Ag 0,01 mg/m³ PEL (OSHA)
Azbest 0,1 vlákna/cm³ PEL (OSHA)
Oxid ceričitý 0,000 2 mg/m³ (EPA návrh, 2008)

Tab. 2 Expoziční limity člověka pro vybrané nanomateriály [40].



Obr. 8. Příklad zařízení (model 3934 SMPS), které umožňuje měřit počet částic a jejich rozměrové rozdělení v rozmezí 10–1 000 nm s použitím detekce elektrické pohyblivosti [53].

votního poškození u běžně připravovaných polovodičů. Přesto jsou známé při napařování sloučenin kadmia tragické případy.

Druhá připomínka souvisí s prací s nanočásticemi v digestoři. K. Savolainen představil na pražské konferenci o nanotoxicitě [51] důkladné řešení, jež zajišťuje pracovníkovi nezávislý přívod vzduchu pro velmi náročné aplikace (obr. 7). Jedná se snad o extrémní přístup, ale jistě je užitečné uvažovat i o něm. Na obr. 6 je ukázána kontinuální kontrola znečištění vnitřního prostoru digestoře a laboratorního ovzduší před digestoří. To umožňuje kontrolovat účinnost vzduchotechnického zařízení. Vyhodnocení čistoty analyzovaného ovzduší provádí zařízení (SMPS, model 3934) měřící počet částic a jejich rozměrové rozdělení v rozmezí 10 nm až 1 000 nm sledováním jejich pohyblivosti v elektrickém poli – obr. 8 [53].

Připustíme-li, že počet laboratoří a továren s nanotechnologickým programem ve světě je již teď značný (a stále roste) a snaha výrobců o komerční úspěch předbílá složitá vyšetření zdravotních rizik nových produktů, bude asi povinností státu zajistit dostatečný počet kontrolních měřicích stanovišť, která by v součinnosti se špičkově vybavenými výzkumnými pracovišti situací kontrolovala. Kvalita vybavení je nezbytná k analýze jak množství, tak i složení případných nanoznečištění. Je třeba vzít v potaz i to, že tato problematika souvisí s bezpečnostními zájmy státu.

Počet pracovišť v České republice, která se postupně hlásí k programu nanotoxicity, se v posledních dvou letech výrazně zvýšil. Jednak k tomu přispěly dosavadní poznatky o množství nanočástic generovaných běžnými činnostmi v průmyslu a zhoršujícím se zdravotním stavem obyvatel v oblastech znečištěných průmyslovými a automobilovými exhalacemi a také v souvislosti s komplexním výzkumem nanotechnologií. V prvním případě byla v rámci části evropské technologické platformy vytvořena organizovaná skupina pracovišť zaměřená na zajištění průmyslové bezpečnosti. Její účastníci jsou uvedeni na obr. 9 podle práce [56]. Obecně se nanotoxicitou zabývají i další pracoviště (obr. 10). Je na nich však ještě nutné řešení této problematiky dále rozvinout a prohloubit, jak výchovou odborníků, tak i zlepšením vybavení. Klíčovými pracovišti by u nás v tomto směru mohl být Ústav experimentální medicíny AV ČR, jež k tomu má všechny předpoklady.

<http://cscasfyz.fzu.cz>

Závěr

Sféra nanotechnologií a nanomateriálů, nanomedicíny a všech dalších nanooborů je nesporně důležitá pro další rozvoj lidské společnosti. Někdo se může, podle mého názoru oprávněně, domnívat, že přinese taky hodně komplikací. Aby dominovaly pozitivní přínosy tohoto oboru, musí být řádně zajištěn jeho detailní a odpovědný výzkum a zavedeny odpovídající kontrolní mechanismy. Jiná cesta pro země aspirující na průmyslovou vyspělost není.

Poděkování

Je mou milou povinností poděkovat GAČR za financování projektu P108/10/0253 a AV ČR za podporu výzkumného záměru AVOZ 10100521.

Literatura

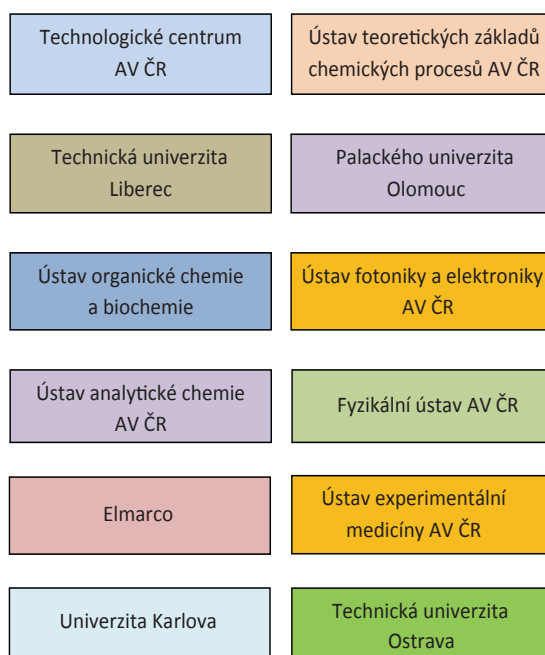
- [1] W. G. Kreyling, M. Semler-Behnke, W. Moller: J. Nanoparticle Res. **8**, 543 (2006).
- [2] S. T. Holgate: J. Biomed. Nanotechnol. **6**, 1 (2010).
- [3] A. Churg a kol.: Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. **142**, 1331 (1990).
- [4] A. Churg, B. Wiggs: Am. J. Pathol. **115**, 437 (1984).

Zdravotní ústav Ostrava, VŠB Technická univerzita Ostrava, Státní ústav jaderné bezpečnosti, Centrum dopravního výzkumu, Členové pracovní skupiny NANOBEZPEČNOST, Vodní zdroje Chrudim, Enviform company Trinec, Envitech Bohemia, s. r. o., Výzkumný ústav bezpečnosti práce Praha



Obr. 9. Účastníci části evropské technologické platformy týkající se průmyslové bezpečnosti [56].

[5] A. Churg, B. Wiggs: *Am. J. Ind. Med.* **11**, 563 (1987).
 [6] D. M. Burnstein, J. A. Hoskins: *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **45**, 252 (2006).
 [7] K. Unfried, C. Schurkes, J. Abel: *Cancer Res.* **62**, 99 (2002).
 [8] R. E. Waller, P. J. Lawther: *Br. Med. J.* **21**, 1473 (1957).
 [9] A. E. Tattersfield: *Thorax* **51**, 13 (1996).
 [10] B. Brunekreef, S. T. Holgate: *Lancet* **19**, 1233 (2002).
 [11] M. Vallius, N. A. Janssen, J. Heinrich, G. Hoek a kol.: *Sci. Total Environ.* **337**, 147 (2005).
 [12] M. L. Scapellato, M. Lotti: *Crit. Rev. Toxicol.* **37**, 461 (2007).
 [13] J. Schwaetz: *Clin. Occup. Environ. Med.* **5**, 837 (2006).
 [14] M. Krzyzanowski, A. Cohen, R. Anderson: *Occup. Environ. Med.* **59**, 791 (2006).
 [15] A. Peters: *Int. J. Epidemiol.* **35**, 1355 (2006).
 [16] A. Nemmar, P. H. Hoet, B. Vanquickenborn, D. Dinsdale a kol.: *Circulation* **105**, 411 (2002).
 [17] V. P. Guntur, R. Dhand: *Respir. Care* **52**, 911 (2007).
 [18] H. Lin, H. Li, H. J. Cho, S. Bian, H. J. Roh, M. K. Li a kol.: *J. Pharm. Sci.* **96**, 341 (2007).
 [19] C. M. Lehr, M. Bur, U. F. Schaefer: *ALTEX* **23**, 259 (2006).
 [20] C. Damge a kol.: *Expert Opin. Drug Deliv.* **5**, 45 (2008).
 [21] J. F. Hillier, R. M. Albrecht: *J. Pharm. Sci.* **90**, 1927 (2001).
 [22] G. J. Nohynek a kol.: *Crit. Rev. Toxicol.* **37**, 251 (2007).
 [23] S. Hofman, S. Stemmler: *Br. J. Dermatol.*, **157**, 441 (2007).
 [24] S. T. Holgate: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **120**, 1233 (2007).
 [25] J. J. Meiring, P. J. Borm, K. Bagate, M. Semmler, J. Seitz, S. Takenaka a kol.: *Part Fibre Toxicol.* **27**, 3 (2005).
 [26] S. M. Moyes, S. H. Smyth, A. Shipman a kol.: *Int. J. Pharm.* **337**, 133 (2007).
 [27] L. K. Limbach a kol.: *Environ. Sci. Technol.* **41**, 4158 (2007).
 [28] T. Xia, M. Kovichich, J. Brant, M. Hotze a kol.: *Nano Lett.* **6**, 1794 (2006).
 [29] X. Chen, C. Deng, S. Tang, M. Zhang: *Biol. Pharm. Bull.* **30**, 128 (2007).
 [30] V. Salnikov a kol.: *Biophys. J.* **92**, 1058 (2007).
 [31] J. Lovric a kol.: *Chem. Biol.* **12**, 1227 (2005).
 [32] L. Brandich-Stolle: *Toxicol. Sci.* **88**, 412 (2005).
 [33] S. Park, Y. K. Lee, M. Jung, K. H. Kim, N. Chung a kol.: *Inhal. Toxicol.* **19**(suppl.1), 59 (2007).
 [34] G. Oberdorster a kol.: *Environmental Health Perspectives* **113**, 823 (2005).
 [35] Committee on the Medical Effects of Air Pollutants (COMEAP), Cardiovascular Disease and Air Pollution, HMSO, London, Feb 2006.
 [36] M. E. Green: *Materials Today* **11**, 16 (2008).
 [37] K. Pulskamp a kol.: *Toxicol. Lett.* **10**, 74 (2007).
 [38] C. Sealy: *Materials Today*, **11**, 10 (2008).
 [39] P. R. Lockman a kol.: *J. Drug. Target.* **12**, 635 (2004).
 [40] P. Sayre: „EPA Experiences with assessing the risk of industrial nanomaterials“, in: *High Level Symposium on Nanotechnology Safety*, 29–30 November 2010, Institute of Experimental Medicine AS CR, Praha 2010.



Obr 10. Vybraná pracoviště, která se problematikou nanotoxicity zabývají mimo evropskou technologickou platformu. Jsou uvedena i pracoviště, která jsou schopna pomoci v této oblasti diagnostickým měřením na vysoké úrovni. Soupis těchto pracovišť není úplný, protože poměrně rychle přibývají další, zejména v oblasti medicíny a potravinářských technologií.

[41] K. W. Okona-Mensah, J. Battershill, A. Boobis, R. Fielder: *Food Chem. Toxicol.* **43**, 1103 (2005).
 [42] K. Slezakova a kol.: *Microchem. J.* **99**, 51 (2011).
 [43] J. Cao: *J. Hazardous Mater.* **186**, 1594 (2011).
 [44] R. D. Brook a kol.: *Circulation* **121**, 2331 (2010).
 [45] F. P. Schwarz s kol.: *Surf. Coat. Technol.* **205** 4850 (2011).
 [46] A. J. T. Naik a kol.: *Mater. Chem. Phys.*, v tisku.
 [47] M. Ahamed a kol.: *Toxicology and Applied Pharmacology* **233**, 404 (2008).
 [48] M. Ahamed, M. S. Alsalhi, M. K. J. Siddiqui: *Clinica Chimica Acta* **411**, 1841 (2010).
 [49] V. Freyre-Fonseca a kol.: *Toxicology Lett.* **202**, 111 (2011).
 [50] A. Kahru, H.-Ch. Dubourguier: *Toxicology* **269**, 105 (2010).
 [51] K. Savolainen: „Engineered nanomaterials and occupational exposure limits“, in: *Symposium on Nanotechnology Safety*, 29.–30. listopadu 2010, Ústav experimentální medicíny AV ČR, Praha 2010.
 [52] J. Schwartz, A. Marcus: *Amer. J. Epidemiol.* **131**, 184 (1990).
 [53] V. Ždímal: „Number and mass size distribution of atmospheric aerosol in various environments in the CR“, in: *Symposium on Nanotechnology Safety*, 29.–30. listopadu 2010, Ústav experimentální medicíny AV ČR, Praha 2010.
 [54] J. Kukutschová, J. Dvořáčková, P. Moravec, P. Komínek, K. Zeleník, H. Bielníková, P. Filip: „Nano-particulate emission, from road traffic and their potential health impact“, tamtéž.
 [55] M. Vojtíšek: „Measurement of nanoparticles emitted by internal combustion engines during real world urban operation“, tamtéž.
 [56] P. Danihelka: „Overview of nanosafety in the Czech Republic“, tamtéž.

» Zvýšení obsahu jemných částic, SO₂ a NO_x o 10 µg/m³ v ovzduší vede k odpovídajícímu vzrůstu kardiovaskulární mortality o 0,9, 3,2 a 2,3%. «