

## NANOČÁSTICE A JEJICH TOXICITA

LUCIE DOHNALOVÁ<sup>a,b</sup> a VLASTIMIL DOHNAL<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Katedra hygieny, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové, <sup>b</sup> Inovacentrum – České vysoké učení technické v Praze, Bílá 2571/6, 160 00 Praha 6 – Dejvice, <sup>c</sup> Katedra chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, České mládeže 8, 400 96 Ústí nad Labem [vlastimil.dohnal@ujep.cz](mailto:vlastimil.dohnal@ujep.cz)

Došlo 10.12.14, přepracováno 25.3.15, přijato 20.4.15.

**Rukopis byl zařazen k tisku v rámci placené služby urychleného publikování.**

Klíčová slova: nanočástice, toxicita, hodnocení rizika, genotoxicita

### Obsah

1. Úvod
2. Definice nanomateriálu
3. Původ nanočástic
4. Toxický účinek NČ
  - 4.1. Interakce NČ na buněčné úrovni
  - 4.2. Farmakodynamika NČ
    - 4.2.1. Absorpce
    - 4.2.2. Osud NČ v organismu
    - 4.2.3. Vyloučení z organismu
  - 4.3. Vybrané interakce NČ
    - 4.3.1. Interakce NČ a centrálního nervového systému
    - 4.3.2. Interakce NČ a oběhového systému
    - 4.3.3. NČ na bázi kovů a oxidů kovů
5. Hodnocení rizika
  - 5.1. Genotoxicita
  - 5.2. Koncept BED
6. Regulace nanočástic
7. Závěr

### 1. Úvod

V současné době vzrůstá produkce a využití nanočástic (NČ) prakticky ve všech odvětvích lidské činnosti včetně potravinářství, pesticidů, kosmetiky či dekontaminace životního prostředí<sup>1</sup>. Nanomateriály, ať již přírodního či antropogenního původu, se tak postupně stávají běžnou součástí našeho životního prostředí. Chemické látky ve formě NČ mají často odlišné toxikologické vlastnosti než

jejich makroskopická forma. S tím souvisí nutnost zavedení nového postupu při hodnocení jejich zdravotních rizik. Účinek NČ na organismus se odvíjí od místa vstupu, velikosti NČ, druhu zvoleného materiálu, kontaminace povrchu, ale i např. pH v jednotlivých orgánech a tkáních lidského těla.

Působení NČ pak může ovlivnit např. funkci centrálního nervového nebo kardiovaskulárního systému. Důraz je kladen také na hodnocení genotoxicity, kdy standardní testy neposkytují zcela relevantní informace. Z tohoto důvodu jsou vyvíjeny nové testy, které by umožnily správně zhodnotit potenciální zdravotní rizika. Současně se tvoří legislativa, která má za cíl postihnout odlišnosti NČ od makroskopické formy látky. Tento článek shrnuje nejvýznamnější trendy v toxikologii nanočástic.

### 2. Definice nanomateriálu

Vymezení pojmu „nanomateriál“ je podstatné pro legislativu upravující zacházení s nanomateriály. Mezinárodní organizace pro normalizaci (International Organization for Standardization, ISO) definuje „nanomateriál“ jako „materiál s jakýmikoliv vnějšími rozměry velikosti v řádu nanometrů nebo s vnitřní strukturou nebo povrchovou strukturou v řádu nanometrů“, přesněji 1–100 nm (cit.<sup>2</sup>).

Dle doporučení Evropské komise ze dne 18. října 2011 se „nanomateriálem“ rozumí přírodní materiál, materiál vzniklý jako vedlejší produkt nebo materiál vyrobený obsahující částice v nesloučeném stavu nebo jako agregát či aglomerát, ve kterém je u 50 % nebo více částic ve velikostním rozdělení jeden nebo více vnějších rozměrů v rozmezí velikosti 1–100 nm (cit.<sup>3</sup>). Evropská komise připouští i některé výjimky, co se týče nižšího (1–50 %) obsahu částic v tomto rozmezí. Mezi nanomateriály jsou též zahrnuty fullereny, grafenové vločky a jednotlivé uhlíkové nanotrubičky s jedním nebo více rozměry pod 1 nm.

Z pohledu definice se „částicí“ rozumí malá část hmoty s definovanými fyzikálními hranicemi, „agregátem“ pak částice složená z pevně vázaných nebo sloučených částic. „Aglomerát“ je shlukem slabě vázaných částic nebo agregátů, jejichž výsledný vnější povrch je podobný součtu povrchů jednotlivých složek<sup>3</sup>.

Americká Agentura pro ochranu životního prostředí (United States Environmental Protection Agency, US EPA) definuje nanomateriály jako materiály, které mají alespoň jeden rozměr menší než 100 nm. Mezi nanomateriály řadí US EPA i NČ, které mají nejméně dva rozměry mezi 1 a 100 nm (cit.<sup>4</sup>).

Zatím neexistuje jednotná všeobecně uznávaná definice nanomateriálu či nanočástic<sup>5</sup>.

### 3. Původ nanočástic

Nanočástice mohou vznikat vlivem přírodních procesů nebo jako důsledek řízené či neřízené lidské činnosti. Přírodní NČ jsou velmi rozmanité. Vznikají sopečnou činností, jsou přítomny v prachu i jemném mořském aerosolu, písku a půdních koloidech. Mezi přírodní NČ se řadí také viry, DNA, proteiny, pyl, apod<sup>6</sup>.

NČ produkované řízenou lidskou činností jsou mnohem lépe definované a více uniformní. Jejich základní rozdělení je uvedeno v tab. I (převzato z cit.<sup>7</sup>). Oproti tomu antropogenní NČ, vznikající náhodným procesem, jsou ve své struktuře i velikosti velmi variabilní. Nejběžnějšími nekontrolovanými procesy vzniku NČ jsou spalování v dieslových motorech, důlní činnost, svařování, apod<sup>8</sup>. Významným zdrojem antropogenních NČ je tedy automobilová doprava<sup>8,9</sup>. NČ jsou generovány nejen mechanickou destrukcí větších částic, ale též nukleárními, koagulačními či kondenzačními procesy prakticky od atomární úrovně<sup>10</sup>.

### 4. Toxický účinek NČ

#### 4.1. Interakce NČ na buněčné úrovni

Významnou roli při interakcích s buněčnými membránami či tkáněmi hraje povrch NČ. Interakce NČ s buněčnou membránou může vyústit až v její mechanické či chemické poškození, např. oxidací. U biologicky aktivních látek může vést interakce s NČ ke změně konformace a tím i ovlivnění jejich funkce<sup>11</sup>. U proteinů či enzymů dochází k inhibici jejich aktivity, v případě DNA může mít interakce s NČ genotoxický či mutagenní účinek<sup>12</sup>.

#### 4.2. Farmakodynamika NČ

##### 4.2.1. Absorpce

Míra absorpce orální cestou a gastrointestinálním traktem je závislá na velikosti NČ. Například absorpce kovových NČ může být vyšší v případě menších a nabitých NČ<sup>13</sup>. U NČ zlata o velikosti 2–100 nm bylo maximální absorpce dosaženo pro nanočástice o velikosti 50 nm (cit.<sup>14</sup>).

V případě absorpce plicemi je rovněž důležitá velikost částic. Plicemi je absorbován tzv. respirabilní podíl. Částice se po kontaktu se stěnami ukládají v dýchacích cestách. Pro NČ velikosti nad 500 nm je hlavním mechanismem sedimentace, která je řízena gravitací, nebo tzv. inertní zásah. Ten nastává v případě, když v plicích dochází ke změně proudění vzduchu, avšak částice si udržuje původní směr a narazí proto na sliznici. Pro částice menší než 500 nm je depozice řízena difuzí. Závisí tedy na tvaru molekuly resp. na jejím difuzním koeficientu. U nabitých velmi jemných částic usnadňuje sorpci elektrostatičká interakce. Díky silným van der Waalsovým silám se mohou deponovat ve formě agregátů více, než by tomu bylo v případě jednotlivých částic. Například inhalované částice o rozměru 50–100 nm mohou tvořit agregáty 5–10 částic a mít vlastnosti částice o velikosti 200–1000 nm. Při kontaktu s povrchem plic mohou tyto aglomeráty disociovat<sup>15</sup>. V případě vláken jsou dle Světové zdravotnické organizace respirabilními vlákny částice o poměru rozměrů nejméně 3:1, delší než 5 μm a s průměrem menším než 3 μm (cit.<sup>16</sup>).

Význam dermální cesty absorpce je relativně nízký. Ženy obecně mají pokožku tenčí než muži, což lépe usnadňuje vstup NČ. Kůže je lepší bariérou vůči absorpci NČ v porovnání s plicemi či trávicím traktem. Vzhledem k tomu, že je kůže pokryta a chráněna tenkým filmem tuků, je možné absorpci NČ zvýšit pomocí organických rozpouštědel. Příkladem dermální absorpce je aplikace NČ

Tabulka I  
Rozdělení cíleně produkovaných nanočástic<sup>7</sup>

Typ nanočástice	Popis
Uhlíková čern	Čistá forma uhlíku. Velmi jemný černý prášek. Částice menší než 100 nm.
Kovy, oxidy kovů, keramika	Množství kompaktních forem NČ včetně nano oxidu titaničitého a křemene. Často v agregované podobě. Kompozity obsahují např. kovové jádro a povrch z oxidu kovu či slitiny.
Fullereny	Sférické molekuly složené z atomů uhlíku.
Uhlíkové nanotrubičky	Allotropní forma uhlíku s cylindrickou strukturou. Mohou být jednovrstevné (single-walled) či vícevrstevné (multi-walled).
Nanodrátky	Vodivé či polovodivé nanodrátky o velikosti desítek nm, např. Co, Au, Cu, Si.
Kvantové tečky	Malé (2–10 nm) útvary polovodičového materiálu s elektronickými, optickými nebo katalytickými vlastnostmi.
Dendrimery	Polymery s rozvětvenou strukturou, často symetrické okolo jádra. Možnost funkcionizace periferních funkčních skupin.
Nanojily	Keramické nanočástice, např. bentonit, kaolinit aj.

TiO<sub>2</sub> o velikosti 4 nm, kdy bylo zjištěno pronikání NČ až do bazálních buněk epidermu. Při dlouhodobé expozici (60 dnů) NČ TiO<sub>2</sub> o velikosti 10–60 nm došlo k projevům systémové absorpce<sup>17</sup>. Aplikace nanoformy ZnO, který je běžnou součástí opalovacích krémů, vedla k jejich pozdější detekci v moči i krvi. V případě NČ stříbra lépe penetrují menší částice (15 nm) v porovnání s částicemi větších rozměrů (102 či 198 nm). Obdobně je tomu i u NČ zlata<sup>17</sup>.

Co se týká tvaru NČ, lépe kůži pronikají sférické NČ a to bez ohledu na náboj. Testy s vepřovou kůží prokázaly, že elipsoidní kationické či neutrální NČ pronikly do epidermu rychleji než anionické. Jedním z vysvětlení tohoto jevu je negativní náboj povrchu vepřové kůže. Průnik kůží je dále ovlivněn hydrofobicitou, látkami sorbovanými na povrchu NČ, agregací NČ, rozpouštědlem NČ, koncentrací NČ, integritou kůže, UV zářením, apod. UV záření zvyšuje penetraci TiO<sub>2</sub> a ZnO. V neposlední řadě penetraci zvyšuje hypertermie, iontoforéza (u hydrofilních a nabitých NČ), dermaportace pulzním elektrickým polem, sonoforéza ultrazvukem, abraze pokožky, napnutí pokožky (masáž), balistické bombardování a chemické přípravky<sup>17</sup>.

#### 4.2.2. Osud NČ v organismu

Osud NČ závisí především na velikosti a chemické povaze povrchu. Menší částice pronikají mnohem snadněji a ve větším počtu do tkání a mohou tak vyvolávat toxický efekt ve větší vzdálenosti od místa vstupu do organismu. Vylučují se však mnohem lépe než částice větších rozměrů<sup>18</sup>. V porovnání s makroskopickou formou disponují NČ velkým povrchem. Ten bývá často modifikován sorpcí různých atomů, molekul, klastrů atomů, apod.

V organismu jsou na povrchu NČ adsorbovány nejčastěji proteiny a bílkoviny. Tyto látky mohou významně pozměnit reaktivitu, chemické a fyzikální vlastnosti a následně i průchodnost NČ membránami buněk a do tkání organismu. U NČ může dojít také k opsonizaci, kdy se na povrch NČ naváží tzv. opsoniny a následně vyvolají jejich fagocytózu imunitními buňkami. Další možností je obalení NČ proteiny a jejich následné rozeznání dalšími buňkami a zpracování. Druh interagujícího proteinu může záviset na velikosti a tvaru NČ. U nerozpustných NČ může dojít při vhodném pH k jejich rozpuštění<sup>19</sup>.

Modifikace povrchu mění toxicitu i způsob vylučování původních NČ. Například malé NČ s povrchem modifikovaným glutationem jsou zpravidla z organismu vyloučeny močí<sup>13</sup>. V této souvislosti nelze opomenout také možnost agregace NČ, kdy vznikají částice mnohem větších rozměrů avšak odlišných vlastností než původní NČ. Významným faktorem je náboj NČ. Má vliv na jejich agregaci, adsorpci nabitých částic včetně biologických sloučenin<sup>20</sup> a v důsledku i na průchod buněčnými membránami<sup>13</sup>.

#### 4.2.3. Vyloučení z organismu

Nejčastější cestou exkrece je moč<sup>21</sup>. Hlavním mechanismem vylučování je renální glomerulární filtrace, kdy jsou vyloučeny globulární proteiny a částice menší než 6 nm. Při testech s hlodavci bylo zjištěno, že v průběhu 4 hodin po nitrožilním podání bylo vyloučeno močí 40 %

kvantových teček o velikosti 5,5 nm a 80 % kvantových teček o velikosti 4,4 nm (cit.<sup>22</sup>). Naopak méně jak 0,5 % NČ Ce o velikosti 30 nm bylo eliminováno močí a stolicí v průběhu 2 týdnů. Částice byly deponovány v buňkách imunitního systému (makrofágy, retikuloendogenní systém) ve formě aglomerátů<sup>18</sup>.

### 4.3. Vybrané interakce NČ

#### 4.3.1. Interakce NČ a centrálního nervového systému

Významnou ochrannou funkci před průnikem NČ do mozku plní hematoencefalická bariéra. Její překonání NČ je dosti obtížné, což mimo jiné znesnadňuje jejich farmaceutické využití. Při experimentech s NČ o velikostech 1,3–100 nm nebyl prokázán průstup skrze tuto bariéru. Kovové NČ větší než 100 nm mohou na svůj povrch sorbovat neuroproteiny a přecházet tak přes hematoencefalickou bariéru<sup>13</sup>. Mechanismem, který lze využít pro průnik NČ, je např. transcytóza přes vrstvu endotelních buněk<sup>23</sup>.

Méně běžnou cestou NČ do mozku je absorpce nosní sliznicí. Skrze axony čichového nervu mohou přecházet některé nanočástice (Ag 50 nm, Mn 30 nm, železo 280 nm, apod.) přímo do mozkové tkáně<sup>24</sup>. Jednou z takových látek mohou být NČ TiO<sub>2</sub>, které působí fotokatalyticky a podílí se na tvorbě reaktivních kyslíkových sloučenin, hydroxylových a superoxidových radikálů.

#### 4.3.2. Interakce NČ a oběhového systému

Nejčastější cestou vstupu do oběhového systému jsou dýchací cesty. Ačkoliv není zcela znám přesný mechanismus působení NČ na oběhový systém, jejich negativní působení bylo již zdokumentováno<sup>25</sup>. Existuje silná korelace mezi množstvím prachu a úmrtností na selhání srdce<sup>6</sup>. Významný je také výskyt aterosklerózy, kdy některé studie navíc potvrzují, že může být spojena s poškozením DNA. Byla zaznamenána i dysfunkce endotelní výstelky cév. Hlavním mechanismem je pravděpodobně oxidační stres. Ten je vyvolán již zánětlivou reakcí v plicích a usnadňuje vznik aterosklerózy. Dále zde hraje roli transmigrační vdechovaných částic do vaskulatury a následné přímé působení na buňky endotelu<sup>25</sup>.

#### 4.3.3. NČ na bázi kovů a oxidů kovů

Při inhalační adsorpci je poločas života původních NČ velmi krátký. Drtivá většina podléhá aglomeraci. Po přechodu do systémové cirkulace dochází ke kumulaci v orgánech, zejména ledvinách a slezině. Je známo, že NČ zlata o velikost 25 nm a titanu o velikostech 22; 25 a 80 nm vstupují do červených krvinek a jsou schopny projít i buněčnou membránou krvinek<sup>26</sup>.

Částečně rozpustné NČ se mohou v kyselém prostředí lysozymu rozpustit a přejít do buňky jako „Trojský kůň“. U některých NČ se zvyšuje rozpustnost se snižující se velikostí. Zvyšuje se tím biodostupnost pro částice, které jsou ve větším měřítku nerozpustné. Například kovové stříbro je nerozpustné, zatímco nanostříbro velmi snadno tvoří volné stříbrné ionty. Je nutné tak uvažovat toxicitu

obou forem – rozpuštěné (roztok) a nerozpuštěné (částice). U částečně rozpustných NČ je iontová forma více nebezpečná, ale toxicky působí obě formy – iontová i částicová<sup>27</sup>. Z kovových NČ mohou být pro člověka genotoxické a karcinogenní například Ni, Co, Cu<sup>28</sup>. Přesný mechanismus účinku však není dosud znám.

Nelze opomenout možnost vzniku kovových NP přímo v těle u jedinců s kovovými implantáty vyrobených zejména ze slitiny chromu, kobaltu, někdy i molybdenu<sup>29</sup>. V některých případech mohou tyto materiály vyvolat i vznik pseudonádoru. V případě potíží bývá kov nahrazován keramikou<sup>30</sup>. Diskuse ohledně NČ vzniklých při oděru kovových protéz či jiných implantátů v organismu stále probíhají. Přehledové články na toto téma jsou publikovány například v časopise *Nanomedicine*<sup>31,32</sup>.

## 5. Hodnocení rizika

Každé hodnocení rizika sestává ze 4 klíčových kroků. Těmito kroky jsou: výzkum, identifikace míry nebezpečí, charakterizace rizika a nastavení regulačních mechanismů k ochraně zdraví<sup>33</sup>. Stejně jako v toxikologii chemických látek, je míra rizika dána součinem nebezpečnosti NČ a délky expozice. Vzhledem k nejednotné uniformitě rozdělení velikostí NČ, u kterých je jejich chování ovlivněno i velikostí, je využití standardních metod pro hodnocení vztahu mezi dávkou a odezvou velmi omezené. V některých případech je však takové hodnocení možné<sup>34</sup>.

### 5.1. Genotoxicita

Genetická informace může být ovlivněna přímým či nepřímým působením NČ. Primární přímé poškození genetické informace nastává interakcí NČ s DNA. Primární nepřímá genotoxicita je vyvolána interakcí DNA s reaktivními sloučeninami kyslíku (reactive oxygen species, ROS) a reaktivních sloučenin dusíku (reactive nitro-

gen species, RNS). NČ mohou zvýšit produkci ROS a RNS nebo zpomalit jejich likvidaci interakcí s antioxidačním systémem. Sekundární nepřímý toxický účinek je vyvolán stimulací zánětlivé reakce NČ, kdy dochází k produkci ROS a následně poškození DNA<sup>12,27</sup>. Těmito mechanismy působí např. vlákna azbestu či NČ vláknitého charakteru, jako jsou např. uhlíkové nanotrubičky. Protože hlavním mechanismem genotoxicity nanočástic je zánětlivá reakce a následná produkce ROS, jsou standardní testy jako např. Amesův test mutagenity nevhodné<sup>35,36</sup>. V tab. II jsou porovnány výsledky standardních testů při testování NČ.

Expozice a toxické účinky uhlíkových nanotrubic závisí na tvaru částice, tedy i na výrobním procesu. Vlákenné částice se chovají obdobně jako azbest. Jednotěnné uhlíkové nanotrubičky mají tendenci tvořit spíše kulové agregáty, zatímco vícečetné tvoří vláknité agregáty. Tato vlastnost je významná zejména u plicní expozice aerosolů. Genotoxicita uhlíkových nanotrubic, obdobně jako je tomu u azbestových vláken, závisí na délce vlákna, jeho průměru, rigiditě, velikosti povrchu, hustotě, tvaru, kontaminujících kovech, apod<sup>7</sup>. Vlákenné rigidní uhlíkové nanotrubičky s poměrem délky a tloušťky větším než 3:1 a délkou 5–20 μm mohou způsobovat rakovinu plic. Také u uhlíkových nanotrubic se velikost částic a tím i toxicita může měnit s jejich agregací či disociací agregátů.

### 5.2. Koncept BED

Nanočástice se v organismu nechovají stejně jako molekuly nebo částice. Proto byla pro hodnocení toxicity NČ navržena tzv. biologicky účinná dávka (biologically effective dose, BED)<sup>37</sup>. Koncept vychází z předpokladu, že toxicita NČ je řízena především jejich velikostí. Toxický účinek nerozpustných NČ je dán velikostí, tvarem a chemickou podstatou povrchové vrstvy. Pro kompaktní málo toxické a málo rozpustné částice je hodnota BED dána

Tabulka II  
Srovnání výsledků běžných genotoxických testů nanočástic<sup>30</sup>

Nanočástice	Amesův test <sup>a</sup>	Chromozomové aberace <sup>a,b</sup>	Mikronukleus test <sup>a,b</sup>	Kometový test <sup>b</sup>	<i>In vivo</i> genotoxicita <sup>a,b</sup>
SWCNT <sup>c</sup>	0	X	X	X	X
MWCNT <sup>d</sup>	0	0	X	X	X
TiO <sub>2</sub>	0	0	X	X	0
ZnO <sub>2</sub>	0	X	0	X	0
Ag	0	X	X	X	X
SiO <sub>2</sub>	0	X	X	X	X
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0	X	X	X	X
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0	X	X	X	X

<sup>a</sup> 0 – negativní test; <sup>b</sup> X – pozitivní test, <sup>c</sup> SWCNT – jednotěnné uhlíkové nanotrubičky (single-walled carbon nanotubes),

<sup>d</sup> MWCNT – vícečetné uhlíkové nanotrubičky (multi-walled carbon nanotubes)

velikostí povrchu. Pro sklo, nerozpustné, ale velmi reaktivní částice, zahrnuje BED velikost povrchu a příslušnou reaktivitu. Pro azbest charakterizovaný dlouhými biopersistentními vlákny a pro částice menších než 10  $\mu\text{m}$  (tzv. frakce  $\text{PM}_{10}$ ) koncept BED uvažuje povrch částic a na něm adsorbované či vázané kovy a organické látky.

Vláknité materiály, jako jsou např. uhlíkové nanotrubičky, se mohou vyskytovat jednotlivě nebo ve formě agregátů. Mohou tvořit samostatná vlákna nebo svazky, které drží pohromadě pomocí van der Waalsových sil. Krátká vlákna jsou účinně fagocytována a vyloučena z organismu.

Na základě znalostí toxicity azbestu (vláknitá paradigma) jsou perzistentní vlákna, která jsou delší než 15–20  $\mu\text{m}$  a průměrem menším než 3  $\mu\text{m}$  považována jako nebezpečná pro lidské zdraví<sup>16,38</sup>. Paradigma vláknové toxicity se tedy zaměřuje na dlouhá vlákna. Zdůrazňuje, že neperzistentní dlouhá vlákna se rozpouštějí, lámou a zkracují, což vede k efektivnímu vylučování z organismu. Jednovrstvé uhlíkové nanotrubičky se díky možné přítomnosti strukturálních poruch mnohem lépe lámou, fragmentují a mohou se i rozpouštět. Proto jsou mnohem méně biopersistentní než vícevrstvé. U vláknitých uhlíkových nanotrubic závisí intenzita zánětlivých účinků a fibrogenicity na délce vlákna. Mechanismus zahrnuje transport vláken z plic do prostoru pohrudnice. Vlákna jsou často delší než buňka, proto nedochází k úplné fagocytóze, ale pouze k částečné, tzv. „frustrované“ fagocytóze. Makrofágy jsou pak v silně aktivovaném a prozánětlivém stavu. U vláknitých uhlíkových nanotrubic zatím nebyla prokázána závislost genotoxicity na délce vlákna.

Reaktivita vláknitých NP může být ovlivněna látkami či ionty, které se mohou uvolňovat z povrchu vláken. V případě azbestu se jedná především o ionty železa, které

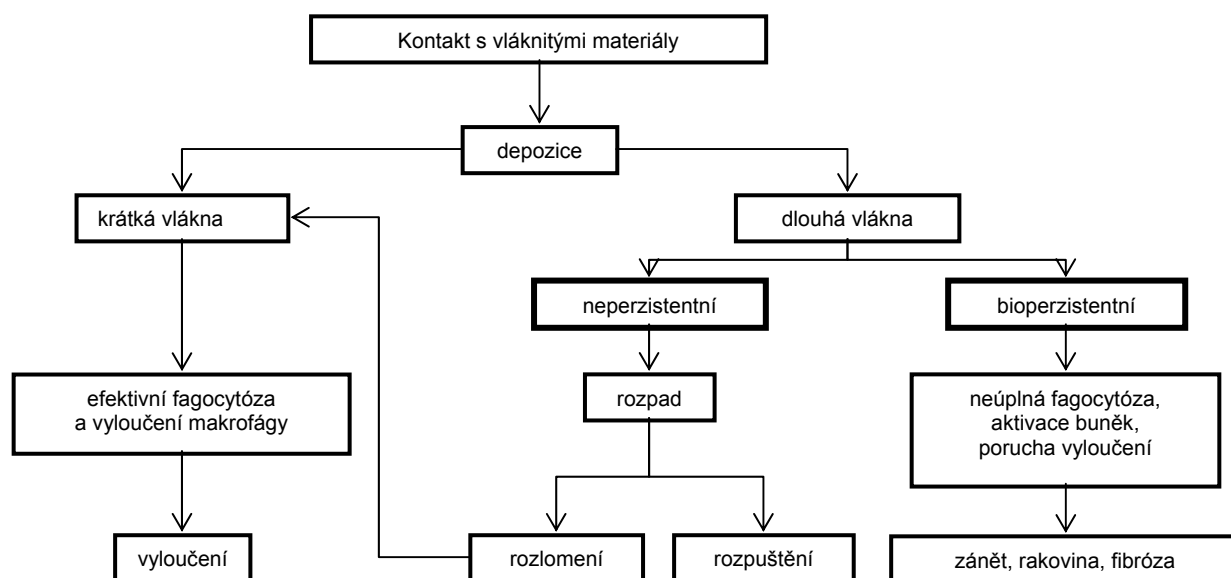
katalyzují vznik volných radikálů. Uhlíkové nanotrubičky mohou obsahovat nejen Fe, ale i Ni či Co. Koncept BED pro nanovlákna je znázorněn na obr. 1 a podrobně shrnut v literatuře<sup>39</sup>.

## 6. Regulace nanočástic

V porovnání s rychlostí rozvoje nanotechnologického průmyslu, jsou poznatky o působení NČ na životní prostředí či zdraví člověka velmi omezené. Z tohoto důvodu existuje v oblasti NČ spíše obecný právní předpis a mnoho konkrétních ustanovení stále chybí.

Role Evropské unie je zajistit integrovaný, bezpečný a odpovědný přístup k dané problematice, revidovat právní předpisy, sledovat vliv na veřejné zdraví i životní prostředí a v případě potřeby zprostředkovat dialog mezi výrobcem, národními autoritami a spotřebitelem. Obdobně, jako v případě chemikálií, podléhá uvádění nanomateriálů na trh země Evropské unie legislativě REACH<sup>40</sup>. Samotné nařízení REACH nemá žádnou speciální úpravu pro nanomateriály. Na stránkách Evropské chemické agentury (ECHA) jsou zveřejněny přílohy, které aktualizují kapitoly R7a, R7b a R7c v Průvodci o informačních požadavcích a chemické bezpečnosti ve smyslu registrace nanomateriálů.

V roce 2012 byla agenturou ECHA zřízena pracovní skupina pro nanomateriály (ECHA – Nanomaterial Working Group, ECHA-NMWG). Jedná se o neformální poradní skupinu složenou z odborníků z členských států, Evropské komise, agentury ECHA a akreditovaných partnerských organizací s pověřením „poskytovat neformální poradenství k jakýmkoli vědeckým a technickým otázkám týkajícím se uplatňování právních předpisů REACH a Klasifikace, označování a balení (Classification, La-



Obr. 1. Koncept biologické efektivní dávky pro vláknité nanočástice<sup>34</sup>

bellings, Packaging, CLP) ve vztahu k nanomateriálům“. Pracovní skupina ECHA-NMWWG si rovněž klade za cíl diskutovat s průmyslovými subjekty o jejich zkušenostech získaných při dokumentování vnitřních vlastností nanoforem pomocí nejnovějších metod a o jejich povinnostech týkajících se plnění požadavků nařízení REACH<sup>41</sup>.

Tento poslední cíl je těsně spjat s prací, kterou agentura ECHA vykonala prostřednictvím skupiny hodnotící již registrované nanomateriály (GAARN). Úkolem skupiny GAARN, kterou v lednu 2012 ustavilo GR pro životní prostředí Evropské komise a kterou vede agentura ECHA, je dojít v neformálním prostředí ke konsensu ohledně osvědčených postupů hodnocení a řízení bezpečnosti nanomateriálů podle nařízení REACH a tak zvýšit jistotu a vzájemné porozumění mezi partnery, aby mohly být nanomateriály trvale vyvíjeny. Závěry a nejlepší postupy, k nimž skupina GAARN dospěje, se sdělí skupině ECHA-NMWWG a jsou sdíleny s partnery<sup>41</sup>.

Charakterizaci NČ a hodnocení jejich toxikologických vlastností se věnuje také dokument OECD č. ENV/JM/MONO(2012)40 (cit.<sup>42</sup>).

Od roku 2006 sleduje a komentuje dění v oblasti nanočástic, zejména jejich využití v potravinách a krmivech, Evropský úřad pro bezpečnost potravin (European Food Safety Authority, EFSA) a jeho pracovní skupina pro potraviny nového typu a nanotechnologie. Na jejich stránkách (<http://www.efsa.europa.eu/>) je dostupná aktuální legislativa pro nanočástice nejen v potravinách, ale i v chemikáliích, biocidech, kosmetice aj.

V České republice je platnou legislativou zákon č. 350/2011 Sb. o chemických látkách a chemických směsích a o změně některých zákonů a s ním související prováděcí předpisy. Rámcová směrnice 89/391/EHS stanoví pro zaměstnavatele řadu povinností spočívající v přijetí opatření nezbytných pro bezpečnost a ochranu zdraví pracovníků.

Nanomateriálů se také úzce dotýká nařízení vlády č. 361/2007 Sb., které stanovuje podmínky ochrany zdraví při práci a určuje mimo jiné přípustné expoziční limity prachu.

Zájemcům o další informace nejen z oblasti toxikologie nanočástic lze doporučit například Sekci nanotechnologie a nanomateriálů při České společnosti pro nové technologie a materiály (<http://www.csnmt.cz/nanosekce/>).

## 7. Závěr

Toxické působení NČ na organismus závisí na jejich chemické podstatě, tvaru a velikosti. Předpokládá se, že vyšší toxicita u NČ než u makroskopické formy je působena větším povrchem. Velký povrch NP v kombinaci s povrchovou reaktivitou zvyšuje riziko např. oxidačního stresu. U účinků toxicity velmi záleží na schopnosti NČ agregovat či disociovat. Zpravidla platí, že čím jsou částice menší, tím mají větší povrch, vyšší toxicitu a vyšší schopnost přejít přes biologické bariéry. Menší částice jsou schopny pronikat do buněk a ovlivňovat procesy uvnitř buněk. V organismu jsou často na NČ adsorbovány

proteiny, čímž může dojít ke změně jejich reaktivity, distribuce i vylučování. Dlouhé rigidní vláknité struktury vykazují karcinogenní účinky podobně jako azbest. Pro hodnocení genotoxicity NČ nejsou obecné testy vždy vhodné. Pro hodnocení toxicity NČ byl vyvinut koncept biologicky efektivní dávky.

*Tento článek byl podpořen z prostředků projektu Preseed strojírenství, individuální aktivita 4, ČVUT- Inovacentrum, číslo projektu: CZ.1.05/3.1.00/14.0305.*

## LITERATURA

1. Nováková T., Šváblová M.: Chem. Listy 103, 524 (2009).
2. ISO Standard 80004-4: Nanotechnologies – Vocabulary–Part 4: Nanostructured materials. International Organisation for Standardisation, Geneva, Švýcarsko (2011).
3. Doporučení komise ze dne 18. října 2011 o definici nanomateriálu 2011/696/EU, 2011. Dostupné z <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:CS:PDF>, staženo 24. března 2015.
4. Technical fact sheet – nanomaterials (EPA - United States Environmental Protection Agency, 2014. Dostupné z [http://www2.epa.gov/sites/production/files/2014-03/documents/ffrofactsheet\\_emergingcontaminant\\_nanomaterials\\_jan2014\\_final.pdf](http://www2.epa.gov/sites/production/files/2014-03/documents/ffrofactsheet_emergingcontaminant_nanomaterials_jan2014_final.pdf), staženo 24. března 2015.
5. Lövestam G., Rauscher H., Roebben G., Klüttgen B. S., Neil Gibson, Putaud J. P. Stamm H.: Considerations on a Definition of Nanomaterial for Regulatory Purposes, JRC Reference report, 2010. Dostupné z: [https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/jrc\\_reference\\_report\\_201007\\_nanomaterials.pdf](https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/jrc_reference_report_201007_nanomaterials.pdf), staženo 24. března 2015.
6. Sanderson P., Delgado-Saborit J. M., Harrison M. R.: Atm. Environ. 94, 353 (2014).
7. Vogel U., Savolainen K. W., Tongeren M., Brower D., Berges M.: *Handbook of Nanosafety: Measurement, Exposure and Toxicology*, str. 22. Elsevier, London 2014.
8. Goel A., Kumar P.: Atm. Environ. 97, 316 (2014).
9. Suzuki A. K., Taneda S., Fujitani Y., Chunmei L.: Toxicol. Lett. 180, 226 (2008).
10. Zhu Y., Hinds W. C., Kim S., Shen S., Sioutas C.: Aerosol Sci. Technol. 38, 5 (2004).
11. Karlsson H. L., Cronholm P., Hedberg Y., Tornberg M., De Battice L., Svedhem S., Wallinder I. O.: Toxicology 313, 59 (2013).
12. Rim K. T., Song S., Kim H. Y.: Saf. Health Work 4, 177 (2013).
13. Zhoumeng L., Monteiro-Riviere N. A., Riviere J. E.: Nanomed. Nanobiotechnol. 7, 189 (2015).
14. Chithrani D. B.: Mol. Membr. Biol. 27, 299 (2010).
15. Carvalho C. T., Peters J. I., Williams R. O.: Int. J. Pharm. 406, 1 (2011).

16. Mikheev M. I.: *Determination of Airborne Fibre Number Concentrations - A Recommended Method, by Phase Contrast Optical Microscopy (Membrane Filter Method)*, World Health Organization (WHO), Geneva 1997.
17. Labouta H., Schneider M.: *Nanotechnol. Biol. Med.* 9, 39 (2013).
18. Boyes W. K., Chen R., Chen Ch., Yokel A. R.: *Neurotoxicology* 33, 902 (2012).
19. Cho W. S., Duffin R., Thielbeer F., Bradley M., Megson I. L., MacNee W., Poland C. A., Tran C. L., Donaldson K.: *Toxicol. Sci.* 126, 469 (2012).
20. Grillo R., Rosa A. H., Fraceto F. L.: *Chemosphere* 119, 608 (2015).
21. Jenkins J. T., Halaney D. L., Sokolov K. V., Ma L., Shipley H., Mahajan S., Loudon Ch. L., Asmis R., Milner E. T., Johnston K. P., Feldman D. M.: *Nanotechnol. Biol. Med.* 9, 356 (2013).
22. Choi H. S., Liu W., Misra P., Tanaka E., Zimmer J. P., Itty I. B.: *Nat. Biotechnol.* 25, 1165 (2007).
23. Jain K.: *Nanomedicine* 7, 1225 (2012).
24. Cupaioli A. F., Zucca A. F., Boraschi D., Zecca L.: *Prog. Neurobiol.* 119-120, 20 (2014).
25. Donaldson K., Duffin R., Langrish J. P., Miller M. R., Mills N. L., Poland C. A., Raftis J., Shah A., Shaw C. A., Newby D. E.: *Nanomedicine* 8, 403 (2013).
26. Vogel U., Savolainen K., Wu Q., Tongeren M., Brouwer D., Berges M.: *Handbook of Nanosafety-Measurement, Exposure and Toxicology*. Elsevier, Amsterdam 2014.
27. Dizaj S., Lotfipour F., Barzegar-Jalali M., Zarrintan M., Adibkia K.: *Mater. Sci. Eng., C* 44, 278 (2014).
28. Magaye R., Zhao J., Bowman L., Ding M.: *Exp. Ther. Med.* 4, 551 (2012).
29. Matusiewicz H.: *Acta Biomater.* 10, 2379 (2014).
30. Zhidao Z., Kwon Y., Mehmood S., Downing C., Jurkschat K., Murray D. W.: *Nanotechnol. Biol. Med.* 7, 674 (2011).
31. Madl A. K., Liang M., Kovoichich M., Finley B. L., Paustenbach D. J., Oberdörster G.: *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* (part I), v tisku, dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1549963415000106> (2015).
32. Madl A. K., Liang M., Kovoichich M., Finley B. L., Paustenbach D. J., Oberdörster G.: *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* (part II), v tisku, dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1549963415000520> (2015).
33. European Chemical Agency: *Guidance for Human Health Risk Assessment III, Part B Guidance on regulation (EU) No. 528/2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products - Version 1.0, 2013*. Dostupné z: [http://echa.europa.eu/documents/10162/15623299/biocides\\_guidance\\_information\\_requirements\\_en.pdf](http://echa.europa.eu/documents/10162/15623299/biocides_guidance_information_requirements_en.pdf), staženo 24. března 2015.
34. Nascarella M., Calabrese E. J.: *Dose-Response* 10, 344 (2012).
35. Doak S. H., Manashian B., Jenkins G. J. S.: *Mutat. Res.* 745, 104 (2012).
36. Landsiedel R., Kapp D. M., Schulz M., Wiench K., Oesch F.: *Mutat. Res.* 68, 241 (2009).
37. Donaldson K., Schinwald A., Murphy F., Cho W. S., Duffin R., Tran L., Poland C.: *Acc. Chem. Res.* 46, 723 (2013).
38. Skácel F., Guschlová Z., Tekáč V.: *Chem. Listy* 106, 961 (2012).
39. Donaldson K., Poland C. A., Duffin R., Bonner J. (ed.): *The Toxicology of Carbon Nanotubes*. Cambridge University Press, Cambridge 2012.
40. Komise ES: *Sdělení komise evropského parlamentu, radě a evropskému hospodářskému a sociálnímu výboru - Druhý regulační přezkum týkající se nanomateriálů*, Brusel, 2012. Dostupné z: [http://ec.europa.eu/research/industrial\\_technologies/pdf/policy-communication-from-the-commission-second-regulatory-review-on-nanomaterials\\_cs.pdf](http://ec.europa.eu/research/industrial_technologies/pdf/policy-communication-from-the-commission-second-regulatory-review-on-nanomaterials_cs.pdf), staženo 24. března 2015.
41. Evropská chemická agentura: *Nanomateriály*, Dostupné z: <http://echa.europa.eu/cs/regulations/nanomaterials>, staženo 24. března 2015.
42. Organisation for Economic Co-operation and Development: *Guidance of sample preparation and dosimetry for the safety testing of manufactured, Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials No. 36, ENV/JM/MONO (2012) 40, 2012*. Dostupné z: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2012\)40&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2012)40&doclanguage=en), staženo 24. března 2015.

**L. Dohnalová<sup>a,b</sup> and V. Dohnal<sup>c</sup>** (<sup>a</sup>Department of Hygiene, Faculty of Military Health, University of Defence, Hradec Králové, <sup>b</sup>Inovacentrum – Czech Technical University in Prague, <sup>c</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, J. E. Purkyně University, Ústí nad Labem):  
**Toxicity of Nanoparticles and Its Evaluation**

Chemicals in nanoparticles (NP) often have different toxicological properties in comparison with their macroscopic forms. Therefore it is necessary to introduce a new procedure for the health risk assessments. The effect of NP on the human body depends on the NP entry location, NP size and also on pH inside organs and tissues. NP may have a negative effect, e.g. on for the central nervous or cardiovascular system. function. When evaluating toxicity, emphasis is aimed on the genotoxicity evaluation if standard tests do not provide complete relevant information. For this reason, new tests have been developed to allow evaluation of the potential risks properly. Currently the forms a legislative are created which seek to describe differences between NPs and substances occurring in macroscopic form. This review summarizes most important topics in toxicology of NP.