

Franjo Plavšić
Hrvatski zavod za toksikologiju

Nanotoksikologija

ISSN 0351-1871

UDK 615.9:504

Pregledni rad / Review paper

Primljeno / Received: 20. 7. 2008.

Prihvaćeno / Accepted: 3. 11. 2008.

Sažetak

Nanotoksikologija je nova znanstvena disciplina koja se bavi štetnim učincima nanomaterijala na ljudsko zdravlje i okoliš. Zbog svojih posebnih svojstava čestice malog promjera i goleme površine u odnosu na mikročestice imaju posebna toksikokinetička i toksikološka svojstva. Klasične metode toksikokinetičkih i toksikoloških ispitivanja često nisu prikladne za ispitivanje nanomaterijala pa se ulažu veliki naponi u predviđanju njihovih posebnih fizikalno-kemijskih i toksikoloških svojstava. U tijeku su diljem svijeta brojni projekti kako bi se izabrale i propisale metode ispitivanja utjecaja nanočestica na zdravlje čovjeka. U radu će biti pokazano da postoji mnogo dvojbi, ili čak zabluda, pa će tek za nekoliko godina područje postati uređeno.

KLJUČNE RIJEČI:

metode ispitivanja
nanotoksikologija
štetni učinci
toksikokinetika

KEY WORDS:

methods of investigation
nanotoxicology
side effects
toxicokinetics

Nanotoxicology

Summary

Nanotoxicology is a new scientific discipline which deals with harmful effects of nanomaterials on human health and the environment. Because of their special characteristics, particles of a small diameter and a big area in comparison to microparticles have special toxicokinetic and toxicologic characteristics. Classical methods of toxicokinetic and toxicologic research are often not appropriate for the investigation of nanomaterials; therefore, considerable efforts are required to predict their special physicochemical and toxicologic characteristics. Numerous projects all over the world are in progress to choose and prescribe methods for investigating the impact of nanoparticles on human health. In this paper, it will be shown that there are numerous dilemmas, and even misconceptions in this area, so at least several years will pass before it becomes well defined.

Uvod / Introduction

Jedno od najdinamičnijih područja suvremenih istraživanja svakako je ono koje obuhvaća niz disciplina, a nazivi započinju s nano-. Posebnu pozornost zaslužuju nanomaterijali, a njihovo je osnovno obilježje da sadržavaju nanočestice.

S toksikološkog stajališta nanočestice su izrazito neugodan problem. Nepouzdana su podaci o toksikokinetici te o učincima nanočestica,¹⁻³

a posebno se malo zna o učincima kroničnog izlaganja živih bića njihovu djelovanju. Uza sve ostalo, ne postoje pisane procedure⁴ o toksikološkim ispitivanjima takvih čestica. Postoje samo rezultati znanstvenih istraživanja u laboratorijima bez DLP (*dobra laboratorijska praksa*), koji se ne mogu pouzdano uzimati u obzir pri procjeni rizika. Zbog toga će u ovom prikazu biti više dvojbi nego pouzdanih pretpostavki ili zaključaka.

Toksikokinetika / Toxicokinetics

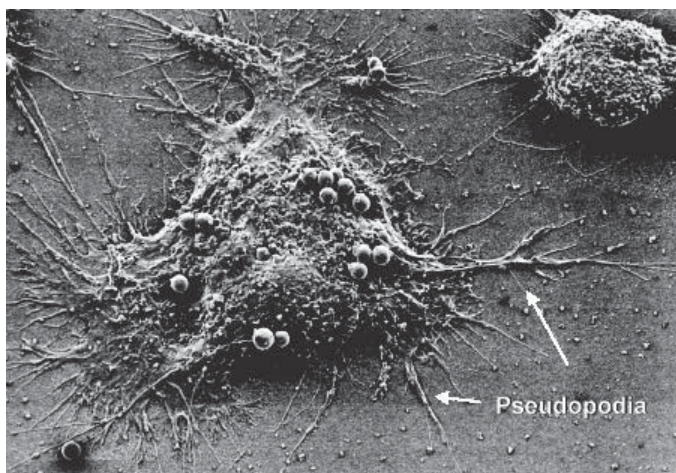
Nanočestice su u pravilu netopljive u vodi ili organskim otapalima. To se posebno odnosi na najčešće tvari poput titanova dioksida, fulerena, aluminijske, platine itd. U klasičnoj toksikokinetici smatra se da tvari netopljive u vodi teško mogu prodirati kroz biološke barijere, uz iznimke poput tvari koje prodiru pinocitozom, ali i one u nečemu moraju biti otopljene. Nanočestice su, međutim, posebno stanje materijala. Njihova veličina od 1 do 100 nm predstavlja posebno svojstvo i utječe na njihovo ponašanje u živim sustavima⁵. Vrlo je zanimljivo usporediti veličinu biološki važnih stanica i molekula (tablica 1).

TABLICA 1 - Veličine stanica i biološki važnih molekula

TABLE 1 – Sizes of cells and biologically important molecules

Stanice i biološki važne molekule / Cells and biologically important molecules	Veličine stanica i biološki važnih molekula / Sizes of cells and biologically important molecules	
	mikrometri	nanometri
Makrofagi	> 10	
Eritrociti	> 10	
Bakterije	1 – 5	
Lipoproteini		100
Ionski kanalići		80
Virusi		80
Bjelančevine (albumin)		80
Hemoglobin		10
Inzulin		5

Najčešće su nanočestice veličine 10 do 20 nm. Reda su veličine polipeptida poput inzulina i vjerojatno mogu prodirati kroz barijere na posebne načine,⁵⁻⁸ što pokazuju i rezultati istraživanja. Najbolje je proučeno odlaganje u plućima, ali ima barem određenih pretpostavki o mogućnosti prodora kroz barijere probavnog sustava ili čak kožu. Ukupna aktivna površina kod odraslih osoba u plućima iznosi oko 150 m², u probavnom sustavu (uglavnom tanko crijevo) oko 200 m² te na koži oko 2 m². Zbog tih se razloga najveća pozornost posvećuje plućima i probavnom sustavu. U literaturi se pojavljuju podaci o biološkoj raspoloživosti nanočestica od približno 1 %, što znači da takva količina može iz pluća ili probavnog sustava prodrjeti u sustavnu cirkulaciju uglavnom nepoznatim mehanizmima prijenosa. Cirkulacijom nanočestice mogu doći do raznih organa i u njima se na dulje ili kraće vrijeme uskladištiti. O eliminaciji iz organizma malo se zna, ali je činjenica da organizam pronalazi načine eliminacije, što se utvrdilo pokusima s radioaktivnim nanočesticama. Jedan od mehanizama uklanjanja iz pluća je fagocitoza^{5,7}. Makrofagi kao tipični čistači lako obuhvate nanočestice, kao na slici 1.



SLIKA 1 - Makrofag i njegova uloga u čišćenju netopljivih materijala iz pluća⁵

FIGURE 1 - Macrophage and its role in the cleaning of insoluble materials from lungs

Ključni problem je u tome da makrofag nema dobre mehanizme uništavanja većine nanočestica (npr. enzimatska hidroliza je sasvim neučinkovita) i može ih uglavnom imobilizirati na mjestu njihova depozita ili omogućiti njihov prijenos kroz barijere. O raspodjeli nanočestica u organizmu također se malo zna, i to posebno kod onih nanočestica koje su projektirane za nakupljanje u posebnim tkivima (npr. tumorskom tkivu s namjerom uništavanja tumorskih stanica). Pitanje je što se događa s česticama manjeg promjera, kao npr. femtočestice. Prije desetak godina vođene su oštre rasprave o projektilima s košuljicama od osiromašenog urana. Znalo se da se prilikom udara projektila u metalne oklope npr. tenkova razvija tako visoka temperatura da se oklop rastali i dio metala prijeđe u paru. Ohlađene čestice u zraku vjerojatno su bile veličine femtometara. Neki su stručnjaci javljali o pojavi teških bolesti u vojnika koji su se našli na području uništavanja iračkih tenkova, ali su toksikolozi smatrali kako nema nikakve mogućnosti prodiranja čestica urana u krvotok izloženih osoba. Razvojem nanotoksikologije posljednjih godina takva su mišljenja dovedena u pitanje i nije isključeno da se uran ipak mogao apsorbirati iz pluća i ući u krvotok izloženih osoba.

U svakom slučaju, toksikokinetika nanočestica u živim organizmima na samom je početku razvoja i još nema svoje učitelje ni jasna stajališta o tome što se događa s nanočesticama u biološkome materijalu.

Štetni učinci / Harmful effects

Zasad se većina istraživača usmjerava na subakutne i subkronične učinke nanočestica unesenih u organizam putem pluća ili kod intravenske primjene^{5,8-10}. Najveći broj radova usmjeren je na sljedeće učinke:

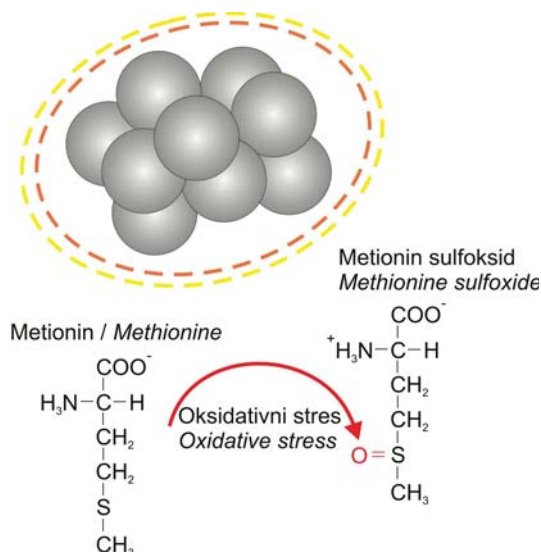
- akutni učinci na dišnim putovima
- translokacija na druge organe
- učinci izvan dišnog sustava.

Kod udisanja nanočestica javlja se proinflamatorni odgovor⁵. Najprije nastupa oksidativni stres i zatim inflamacija uz oslobađanje odgovarajućih činitelja poput interleukina 1-beta, ciklogenaze-1, osteopontina, lipokalina-2, trombospondina-1 itd. Na laboratorijskim modelima dokazan je i oksidativni stres (slika 2) i pojava proinflamatornih procesa.

Translokacija u druge organe nastupa prodorom nanočestica u krvnu cirkulaciju⁷, gdje se taloženjem u njima zbivaju slični procesi kao u plućima. Puno je pretpostavki uz malo dokaza, ali danas znanstvenici najčešće upozoravaju na mogućnost štetnih djelo-

vanja na kardiovaskularni sustav i mozak. Kod kardiovaskularnog sustava uglavnom se pretpostavlja, bez sigurnijih dokaza, mogući slijed događaja:

- poremećaj vegetativne ravnoteže – stres
- vazokonstrikcija
- srčane aritmije
- sistemska inflamacija
- endotelijalna disfunkcija
- infarkt ili koronarna bolest.



SLIKA 2 - Prikaz mehanizma oksidativnog stresa stvaranjem sulfoksida metionina⁵

FIGURE 2 - Illustration of the mechanism of oxidative stress by the formation of methionine sulfoxide

U slučaju središnjega živčanog sustava dokazi su još siromašniji nego kod kardiovaskularnog sustava, a iznose se pretpostavke o slijedu inflamacija/neurodegeneracija. Zapravo je još riječ o običnim znanstvenim spekulacijama, a što se tiče CMR (karcinogenost, mutagenost, reproduktivna toksičnost), podataka i pretpostavki gotovo i nema. Činjenica je da se nigdje ne javlja zvono za uzbunu, ali nedostatak podataka zapravo razvija među znanstvenicima strah od mogućih neugodnih iznenađenja. Pogotovo se toksikolozi boje nepredvidljivih kroničnih štetnih učinaka, a tehnologija se razvija neusporedivo brže od toksikologije na ovom području. Uz to, ne treba zanemariti činjenicu da u raznim procesima (npr. izgaranje dizela ili požari) nastaju nanočestice i šire se u okoliš pa se može pretpostaviti da je čovjek oduvijek bio izložen u određenoj mjeri unosu nanomaterijala u organizam. Zbog toga se danas i regulatorna toksikologija nastoji uključiti u problematiku.

Regulativa i procedure / Regulations and procedures

Kašnjenje toksikologije je proizvodnjom nanočestica postalo je nepodnošljivo potkraj milenija i tada su počeli razgovori na najvišim razinama stručnih tijela EZ-a i važnih svjetskih zemalja. Ključni je događaj bio 39th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology, posvećen upravo nanomaterijalima koji se stavljaju na tržište. Održan je u veljači 2006. u organizaciji OECD-a i izvještaji su dostupni putem interneta. Ključne teme za raspravu bile su:

- definicije, nomenklatura i karakterizacija (fizikalno-kemijska svojstva, uporaba)
- identifikacija opasnosti i procjena rizika na ljudsko zdravlje te metode ispitivanja

- ekotoksikološki rizici i metode ispitivanja
- regulatorni okviri.

S toksikološkog stajališta trebalo je odgovoriti na brojna pitanja¹¹ o glavnim izvorima izlaganja ljudi uz uzimanje u obzir činjenice da nanočestice nastaju i u prirodnim procesima. Koje se toksikološke metode mogu uporabiti za utvrđivanje učinaka nanomaterijala na ljudsko zdravlje? Bilo je važno utvrditi koji se štetni učinci potencijalno mogu pojaviti kod ljudi, koje se konvencionalne metode ispitivanja toksičnosti mogu primijeniti, a koje se nove metode trebaju uvesti, kakva je opća toksikokinetika nanomaterijala. Slična su se pitanja postavljala u vezi s ekotoksičnosti te praćenjem i nadgledanjem (monitoringom) nanočestica u okolišu. Predviđeno je nekoliko projekata opsežnih istraživanja, a svakako se moralo razmišljati i o regulativi. Poseban projekt posvećen je tom području, s posebnim naglaskom na nadzoru primjene ovih materijala, ispitivanju toksičnih svojstava itd. Kod toga je izrazito važno od samog početka ustrajati na DLP (*dobra laboratorijska praksa*). Znanstveni radovi često daju nedovoljno provjerene rezultate i izazvali su mnogo teškoća u ocjenama toksičnosti pojedinih kemikalija, a nerijetko su korišteni u velikim bitkama multinacionalnih kompanija za tržišta (npr. sladila). Jedan od prvih pravilnika vezan uz *Zakon o kemikalijama* u Hrvatskoj bio je *Pravilnik o DLP*¹². Osnovno je pravilo da se u ovom području vjeruje jedino i isključivo stalno nadziranim DLP laboratorijima i njihovim rezultatima, koji se mogu uvijek provjeriti već detaljnim pregledom laboratorijske dokumentacije. Na tome je posebno važno ustrajati kod ispitivanja nanomaterijala, ali je prije toga potrebno propisati metode ispitivanja. Na tome se uvelike radi u cijelom svijetu, a jasno je da već i danas neke od propisanih procedura za konvencionalne kemikalije dolaze u obzir (npr. akutna otrovnost, nagrizajuće djelovanje, nadraživanje, izazivanje preosjetljivosti itd.). Nerješiv problem vjerojatno nisu ni metode za ispitivanje mutagenosti, karcinogenosti i reproduktivne otrovnosti, ali posebni učinci djelovanja na dišne organe (npr. titanoze izazvane nanočesticama titanova dioksida u odnosu na mikročestice) očito zahtijevaju poseban trud stručnjaka. Očekuju se uskoro rezultati projekata iz 2006. godine u vidu direktiva, uredaba

i lista. Tehnološki razvoj nemoguće je zaustaviti, ali se rizici za ljudsko zdravlje i okoliš moraju smanjiti na najmanju moguću mjeru. Ne smije se dopustiti da bolesti koje izazivaju nanočestice, nanooze, budu još teže nego što je to danas slučaj s azbestozom.

LITERATURA / REFERENCES

1. National Center for Environmental Research, Science to Achieve Results Program: *Impacts of Manufactured Nanomaterials on Human Health and the Environment*, US Environmental Protection Agency, es.epa.gov/ncer/rfa/current/2003_nano.html, July 2003.
2. US Environmental Protection Agency, Proceedings: *EPA Nanotechnology and the Environment: Applications and Implications STAR Progress Review Workshop*. EPA Document Number: EPA/600/R-02/080, February 2003.
3. Hoet, Peter H. M. et al.: *Nanoparticles – known and unknown health risks*. *Journal of Nanobiotechnology* 2(2004)12, doi:10.1186/1477-3155-2-12. doi:10.1186/1477-3155-2-12.
4. Holsapple, M. P. et al.: *Research Strategies for Safety Evaluation of Nanomaterials, Part II: Toxicological and Safety Evaluation of Nanomaterials, Current Challenges and Data Needs*. *Toxicological Sciences* 88(2005)1, 12–17, (doi:10.1093/toxsci/kfi293. PMID 16120754, doi:10.1093/toxsci/kfi293).
5. Stöger, T.: *Mechanistic Aspects of Nanoparticle Toxicology-Particle Deposition and Clearance*, nanoparticles.org/pdf/stoeger.pdf.
6. Ryman-Rasmussen, J. P. et al.: *Penetration of Intact Skin by Quantum Dots with Diverse Physicochemical Properties*, *Toxicological Sciences* 91(2006)1, 159–165, (doi:10.1093/toxsci/kfj122. PMID 16443688, doi:10.1093/toxsci/kfj122).
7. Giser, M. et al.: *Ultrafine Particles Cross Cellular Membranes by Nanophagocytic Mechanisms in Lungs and in Cultured Cells*, *Environmental Health Perspectives* 113(2005)11, (1555–1560, doi:10.1289/ehp.8006).
8. Li, N. et al.: *Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage*, *Environmental Health Perspectives* 111(2003)4, 455–460, [2].
9. Magrez, A. et al.: *Cellular Toxicity of Carbon-Based Nanomaterials*, *Nano Letters* 6(2006)6, 1121–1125, (doi:10.1021/nl060162e. doi:10.1021/nl060162e).
10. National Institute of Environment and Health, National Institutes of Health. *Substances Nominated to the NTP for Toxicological Studies and Testing Recommendations Made by the NTP Interagency Committee for Chemical Evaluation and Coordination (ICCEC) on June 10 2003.*, ntp-server.niehs.nih.gov/NomPage/2003Noms.html, ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/liason/Factsheets/FactsheetList.html.
11. *Pravilnik o dobroj laboratorijskoj praksi*, NN, (2007)69.

DOPISIVANJE / CONTACT

Prof. dr. sc. Franjo Plavšić
Hrvatski zavod za toksikologiju
Martićeva 63a, HR-10000 Zagreb
Tel.: +385-1-46-86-910, faks: +385-1-46-41-368
E-adresa: fplavsic@htz.hr

Talijanska industrija opreme za preradbu polimera u 2007.

Priredila: Gordana BARIĆ

Talijanska industrija opreme za polimerstvo svjetski je predvodnik po opsegu proizvodnje i izvoza. U 2007. godini taj je industrijski sektor proizveo opreme u vrijednosti od 4,25 milijardi eura, i od toga izveo opreme za gotovo 2,7 milijardi eura (ili blizu 65 %). Talijanski su prerađivači kupili opreme u vrijednosti od oko 2,2 milijarde, a uvezeno je opreme u vrijednosti od oko 600 milijuna eura. Stoga je, prema podacima udruženja *Asocomplast*, doprinos toga sektora talijanskoj platnoj bilanci u 2007. bio veći od 2 milijarde eura uz povećanje opsega proizvodnje za 9 % i izvoza za 15 % u odnosu

na 2006. Najveće iznenađenje su pokazatelji povećanja izvoza na rastuća tržišta Rusije (više od 90 %), Indije (više od 35 %) i Turske, ali ni tradicionalne zemlje partneri kao Njemačka (+ 22 %), Francuska (+ 11 %), Španjolska i SAD nisu podbacile. Najviše se izvozi oprema za fleksografski tisak, a slijede ubrizgavalice, ekstruder te pihalice, dok je najveće izvozno tržište i dalje Njemačka.

Asocomplast Press Release, 8/2008.