

Laboratorium

Przegląd Ogólnopolski

3-4/2014

ISSN 1643-7381

 **HYDROLAB**



źródło wody w **Twoim laboratorium**

- projektowanie i produkcja laboratoryjnych systemów oczyszczania wody
- gwarancja jakości wody spełniającej wymogi PN-EN ISO 3696:1999, ASTM, CLSI, FP IX
- pełna dokumentacja kwalifikacyjna (IQ, OQ i PQ)
 - montaż, rozruch oraz szkolenie
 - profesjonalna obsługa serwisowa

www.hydrolab.pl

DIAGNOSTYKA LABORATORYJNA

Szybkie testy
diagnostyczne

LABORATORIUM PRZEMYSŁOWE

Spektrometria ICP-MS

LABORATORIUM ŚRODOWISKOWE

Bioinsektycydy

ADDYI

**Instytut
Badawczy
Dróg
i Mostów**

Nanotechnologia – korzyści i zagrożenia

STRESZCZENIE | Opracowanie poglądów tłumaczy zadziwiające właściwości nanostruktur, omawia możliwe szlaki aktywowania odpowiedzi metabolicznej komórki na stres wywołany kontaktem z nanostrukturami oraz wskazuje problemy związane z możliwością prawnych rozwiązań kontroli wytwarzania i dystrybucji produktów nanotechnologii.

SŁOWA KLUCZOWE | nanotechnologie, nanostruktury, komórka, ocena zagrożeń

SUMMARY | The elaboration explains pictorially the amazing properties of nanostructures, discusses the possible pathways to activate cell metabolic responses to stress caused by contact with nanostructures, and points problems related to the possibility of legal solutions to control the production and distribution of products of nanotechnology.

KEYWORDS | nanotechnologies, nanostructures, cell, risk assessment

Nanotechnologie, obok biotechnologii i technologii informatycznych, należą do najintensywniej rozwijających się współcześnie technologii o szerokim spektrum zastosowań. Jako początek nanotechnologii przyjęto uważać dzień 29 grudnia 1959 roku, kiedy Richard Feynman, w wystąpieniu *There's Plenty of Room at the Bottom* wygłoszonym na dorocznej konferencji Amerykańskiego Stowarzyszenia Fizyków w Kalifornijskim Instytucie Technologicznym, zaprosił słuchaczy do nowego obszaru fizyki, określonego atomową skalą rozmiarów analizowanych obiektów. Właśnie ta skala dała nazwę nanotechnologii nowemu obszarowi fizyki i technologii. Warto pamiętać, że przewidywania wyrażone 54 lata temu przez Feynmana okazały się trafne, także w zakresie analogii produktów nanotechnologii do biopolimerów powstałych w procesach biologicznych. Oczywiście w naszej rzeczywistości inżynierskie produkty nanotechnologii, biotechnologii i technologii chemicznej współwystępują z naturalnie powstającymi produktami procesów biologicznych, a także produktami naturalnych procesów fizycznych (wybuchy wulkanów, procesy zużycia współpracujących podzespołów, procesy spalania itp.).

Obecnie możemy mówić o powszechnym zastosowaniu produktów nanotechnologii we wszystkich obszarach gospodarki. Niestety, dostępne techniki analityczne nie zawsze pozwalają na potwierdzenie obecności produktów nanotechnologii w oferowanym na rynku wyrobie. Z tego też powodu istnieje realne zagrożenie obecności produktów nanotechnologii w wyrobach, których wytwórca chce ukryć ten fakt. Zbiegają się tu dwa problemy, mianowicie brakowi jednoznacznych

i skutecznych przepisów prawnych regulujących zasady wprowadzania na rynek produktów nanotechnologii towarzyszy niepewność, lub wręcz niemożliwość, oznaczania obecności tych produktów w oferowanych wyrobach i/lub półproduktach.

Chociaż przewidywania Richarda Feynmana w odniesieniu do możliwości nowych technologii okazały się trafne, to zabrakło w nich rozważań nad możliwym wpływem produktów tych technologii na żywe organizmy. Dopiero kilkanaście lat temu do świadomości naukowców, a później decydentów, dotarły rozproszone informacje dotyczące możliwych negatywnych skutków kontaktu produktów nanotechnologii z obiektami biologicznymi. Od tego czasu trwają prace nad prawnymi uwarunkowaniami wprowadzenia produktów nanotechnologii do obrotu gospodarczego.

DEFINICJA NANOMATERIAŁU
Kłopoty z określeniem uwarunkowań prawnych wprowadzenia produktów nanotechnologii do obrotu gospodarczego wynikają głównie z braku ogólnie akceptowanej definicji nanomateriału. Na użytek prac badawczych definicja nanostruktury jest intuicyjna. Obiekt, którego co najmniej jeden z wymiarów jest z zakresu 1-100 nm, traktowany jest jako nanostruktura. W zgodzie z takim określeniem wyróżniamy nanostruktury punktowe (np. kropki kwantowe), nanostruktury jedno- i dwuwymiarowe (np. polimery liniowe, warstwy o grubości nanometrycznej, nanostrukturizowane powierzchnie) oraz nanostruktury trójwymiarowe (np. nanokryształy, nanorurki, dendrymery i inne przestrzenne nanostruktury). Jednak to, co jest wystarczające na użytek laboratoriów badawczych,

prof. dr hab. Bogdan Walkowiak

ZAKŁAD BIOFIZYKI, INSTYTUT INŻYNIERII MATERIALNEJ,
POLITECHNIKA ŁÓDZKA

LABORATORIUM BIOFIZYKI MOLEKULARNEJ
I NANOSTRUKTURALNEJ BIONANOPARKU,
ŁÓDZKI REGIONALNY PARK NAUKOWO-TECHNOLOGICZNY

NANOMATERIALS WORKING GROUP OF EUROPEAN CHEMICAL AGENCY,
HELSINKI, FINLANDIA

nie zawsze jest akceptowane przez podmioty gospodarcze, których celem jest produkcja i sprzedaż wytworzonych dóbr. W Unii Europejskiej obowiązuje jednolity system rejestracji substancji chemicznych REACH wprowadzony i nadzorowany przez Europejską Agencję Chemiczną z siedzibą w Helsinkach. W Polsce agendą rządową odpowiedzialną za realizację postanowień REACH jest Biuro ds. Substancji Chemicznych z siedzibą w Łodzi. System REACH definiuje sposoby identyfikacji, klasyfikacji i rejestracji substancji chemicznych wprowadzanych do obrotu rynkowego, jednak w chwili obecnej REACH nie klasyfikuje produktów nanotechnologii. Dodatkowo REACH nie wymaga rejestracji substancji wprowadzanej na rynek w ilości do 1 tony w skali roku. W odniesieniu do nanostruktur ta ilość często okazuje się zbyt duża i substancje będące produktami nanotechnologii nie muszą być rejestrowane. Oczywiście trwają prace nad modyfikacją systemu REACH w celu uwzględnienia kategorii nanomateriałów, ale sytuacja nie napawa optymizmem.

Podstawową trudnością jest definicja nanomateriału. Obecna definicja zaprezentowana przez Komisję Europejską w dniu 20.08.2013 r. ma brzmienie: „Nanomateriały to naturalne, powstałe przypadkowo lub wytworzone celowo materiały zawierające cząstki w stanie niezwiązany lub w formie agregatów bądź aglomeratów, gdzie 50% lub więcej cząstek w liczbowym rozkładzie wielkości posiada co najmniej jeden wymiar zewnętrzny w przedziale 1 nm-100 nm. W szczególnych przypadkach, jeżeli uzasadnione jest to obawami o środowisko naturalne, zdrowie, bezpieczeństwo i konkurencyjność, próg 50% dystrybucji może zostać zastąpiony progiem między 1 i 50%. W drodze odstępstwa od powyższego, fulereny, płatki grafenu i pojedyncze nanorurki węglowe, o jednym lub większej liczbie wymiarów zewnętrznych poniżej 1 nm, należy traktować jako nanomateriały”.

Warto zwrócić uwagę na dużą dowolność w uznaniu substancji jako nanomateriał. W pierwszej części definicji zakłada się, że 50% lub więcej cząstek w liczbowym rozkładzie wielkości ma spełniać warunek nanostruktury. Jednak już w kolejnej części dopuszcza się uznanie jako nanomateriał substan-

cji zawierającej znacznie mniejszą koncentrację nanostruktur, przy czym tłumaczy się to także konkurencyjnością produktu, a więc interesem podmiotu gospodarczego uczestniczącego w grze rynkowej.

Kolejną trudnością jest problem z jednoznacznością identyfikacją nanostruktur. Jeżeli mamy do czynienia ze stosunkowo prostymi nanostrukturami (cząstki metali, tlenków metali, minerały, pigmenty organiczne itp.), dostępne są odpowiednio dobrze zdefiniowane metody identyfikacji i charakteryzowania tych nanostruktur. Są to głównie: mikroskopia elektronowa (transmisyjna TEM i skaningowa SEM), mikroskopia sił atomowych (AFM i liczne jej odmiany), metody optyczne (dynamiczne rozpraszanie światła DLS, pochłanianie światła LA), metody rentgenowskie (rozpraszanie niskokątowe SAXS, analiza składu chemicznego EA, spektroskopia fotoelektronów XPS), metody spektrometrii masowej (spektrometria masowa jonów wtórnych SINS), frakcjonowanie (w przepływie laminarnym FFF i w chromatografii cieczowej SEC), pomiar powierzchni swobodnej (adsorpcja obojętnego gazu BET). Jednak nawet te wysoce wyspecjalizowane metody okazują się trudne do wykorzystania w przypadku skomplikowanych nanostruktur, szczególnie w przypadku wielopierwiastkowego składu i skomplikowanych struktur wewnętrznych (przykładowo syntetyczne biopolimery i struktury hybrydowe). W takich sytuacjach może okazać się, że tylko twórca lub wytwórca tych struktur może mieć wiedzę dotyczącą identyfikowania i charakteryzowania nowo powstałych nanostruktur. Wydaje się stosownym wprowadzenie obowiązku dostarczenia przez wytwórcę metod identyfikacji wytworzonych nanostruktur. Należy też poszukiwać innych, alternatywnych metod detekcji, identyfikacji i charakteryzowania nanostruktur, także z wykorzystaniem biosensorów i metod biologii molekularnej.

‡ EFEKTY GEOMETRYCZNE

Często pojawia się pytanie, dlaczego forma nano ma zupełnie inne, zaskakujące i często nieprzewidywalne, właściwości w porównaniu do formy makro tej samej substancji. Jedną z przyczyn jest czynnik geometryczny, to znaczy stosunek powierzchni struktury do jej objętości.

Wraz ze zmniejszaniem rozmiarów drobin rozdrabnianej substancji stosunek powierzchni tych drobin do jej objętości rośnie, a wzrost ten jest gwałtowny, gdy rozmiary liniowe nanostruktury spadają poniżej 100 nm. Oznacza to, że coraz większy odsetek atomów substancji eksponowanych jest na powierzchni nanostruktury, aż do granicznych warunków, gdy wszystkie atomy dostępne są na powierzchni nanostruktury. Sytuacja taka sprzyja zmianom właściwości fizycznych substancji i zmianom ich reaktywności chemicznej, a także powszechnemu występowaniu efektów kwantowych nieobserwowanych w skali makro.

Jako przykład wpływu czynnika geometrycznego na obserwowane procesy fizyczne warto rozważyć błonę komórkową żywej komórki zwierzęcej. Grubość tej błony wynosi około 10 nm, natomiast spoczynkowy potencjał błonowy w warunkach fizjologicznych wynosi około 100 mV. Błona komórkowa stanowi dwuwarstwę fosfolipidową przypominającą strukturę kondensatora, którego okładziny stanowią polarne grupy fosfolipidów, natomiast warstwę dielektryka stanowią niepolarne grupy węglowodorowe. Przy tak zdefiniowanych warunkach geometrycznych i elektrycznych na błonie komórkowej odkłada się natężenie pola o wartości około 10^7 V/m. Jest to potężne pole elektryczne zdolne do niezwykle silnej polaryzacji dielektryka, jakim jest wnętrze błony komórkowej, a tym samym do usztywnienia tej błony. W warunkach spoczynkowych spontaniczny ruch termiczny łańcuchów węglowodorowych jest silnie ograniczony, a transport przez błonę komórkową możliwy jest tylko z wykorzystaniem wyspecjalizowanych systemów transportu. W trakcie pobudzenia komórki dochodzi do depolaryzacji błony komórkowej, w wyniku czego gwałtownie wzrasta płynność dwuwarstwy fosfolipidowej i możliwe są różnorodne ruchy składników błony komórkowej ułatwiające transport różnych substratów przez błonę. Warto również zdać sobie sprawę, że skala nano jest typową skalą rozmiarów obszarów przybłonowych, w których zachodzą zlokalizowane reakcje biochemiczne. W tej skali reakcje zlokalizowane są w bardzo małych objętościach rzędu attolitrów (10^{-18} l), a mikromolarne zmiany w stężeniu substratów i produktów odpowiadają wejściu ▷

▷ w reakcję lub przepływem kilkudziesięciu (około 60) molekuł, podczas gdy w skali makroskopowej odpowiadającej eksperymentom *in vitro* w probówce odpowiada to około 6×10^{17} molekuł. Oczywiście jest, że łatwiej kontrolować reakcje kilkudziesięciu molekuł w komórce niż reakcje miliarda miliardów tych molekuł w probówce. Jest to też często przyczyną nieporozumień we właściwym zrozumieniu przebiegu procesów fizjologicznych.

Żeby jednak nie pozostać przy wrażeniu, że skala nano dotyczy tylko obiektów biologicznych, warto zdać sobie sprawę, że do przykrycia monowarstwą grafenu powierzchni kwadratu o boku 100 m (10^4 m²) potrzeba około 10 g tego materiału, którego całkowita objętość wynosi około 5 ml (5×10^{-6} m³). Dla porównania – do pokrycia tej samej powierzchni cienką folią aluminiową o grubości 0,1 mm potrzeba około 2700 kg tego lekkiego metalu i objętości 1000 l (1 m³). Porównując wytrzymałość takich pokryć – zdecydowanie preferowany jest grafen z jego wytrzymałością na rozciąganie wynoszącą około 130 GPa w porównaniu z wytrzymałością aluminium wynoszącą około 350 MPa.

‡ EFEKTY KWANTOWE

Równocześnie z pojawianiem się efektów geometrycznych obserwowane są efekty kwantowe, nieobserwowane w świecie makroskopowym. Można przytaczać szereg przykładów w tym zakresie, ale z braku miejsca omówione zostaną tylko te, które stosunkowo łatwo zaobserwować, czasami nawet gołym okiem, jak w przypadku zawiesiny nanocząstek złota przejawiającej w świetle białym różne barwy w zależności od rozmiaru tych cząstek. Bardzo małe cząstki, zawierające kilka atomów złota, o wymiarach rzędu 1 nm, nadają zawiesinie barwę żółtą. Ze wzrostem liczby atomów złota w drobinie, przy około $1,5 \times 10^6$ atomów i średnicy około 30 nm, zawiesina ma barwę intensywnie czerwoną. Przy rozmiarach rzędu 60 nm (około 10^7 atomów złota) barwa zawiesiny jest intensywnie fioletowa, a powyżej 100 nm przechodzi w barwę niebieską. Różnorodność obserwowanych barw jest wynikiem efektów kwantowych oddziaływania fotonów (kwantów energii światła) z elektronami atomów złota dostępnych dla padających fotonów.

Innym przykładem z zakresu zjawisk optycznych jest zjawisko powierzchniowego rezonansu plazmonowego. Zgodnie z prawami optyki geometrycznej w warunkach całkowitego wewnętrznego odbicia światła na granicy dwóch ośrodków o różnej gęstości optycznej dochodzi do 100% odbicia energii padających fotonów. Jednak dokładna analiza tego zjawiska metodami optyki kwantowej pokazuje, że padające światło penetruje ośrodek optycznie rzadszy na głębokość do 300 nm, a fotony padającego światła mogą być rezonansowo pochłaniane przez swobodne elektrony (plazmon) znajdujące się tym ośrodku oraz na jego granicy, co skutkuje deficytem energii w strumieniu światła odbitego. Deficyt ten jest na tyle duży, że może być pomierzony dostępnymi metodami refraktometrii świetlnej. Warunki rezonansowego pochłaniania fotonów zależą od właściwości dielektrycznych ośrodka optycznie rzadszego. Zjawisko to wykorzystano do obserwacji zmian masy na powierzchni granicznej obu ośrodków, uzyskując niezwykłą czułość pomiaru rzędu 1 pg/cm² (10^{-16} kg/m²).

Jako kolejny przykład można rozpatrzeć zmiany szerokości pasm energetycznych w obiektach o rozmiarach poniżej 100 nm. Pasma te powstają w wyniku nakładania się i degeneracji poziomów energetycznych elektronów w atomach tworzących strukturę ciała stałego. W warunkach makroskopowych liczba atomów dających wkład w powstające pasmo energetyczne jest bardzo duża, natomiast w nanostrukturach liczba ta znacząco maleje, co skutkuje zmianami szerokości pasm podstawowych, zabronionych i przewodnictwa. Efektem tego zjawiska są zmiany właściwości przewodzenia prądu elektrycznego i zmiany długości fali światła adsorbowanego przez nanostruktury.

Można wymieniać jeszcze wiele innych efektów kwantowych w skali nano, choćby zjawisko emisji polowej zachodzące przy różnicy potencjałów kilku woltów z ostrza o promieniu krzywizny kilku nanometrów, zjawisko tunelowego przewodzenia prądu (diody tunelowe) i wiele innych.

‡ ZAGROŻENIA ZE STRONY NOWYCH TECHNOLOGII

Jak wynika z wyżej przedstawionych przykładów, należy oczekiwać wielu ko-

rzystnych rozwiązań technologicznych wykorzystujących nanotechnologię. Wydaje się, że jedynie nasza wyobraźnia ogranicza możliwości nowych rozwiązań materiałowych i technologicznych. Warto jednak zastanowić się, czy nieograniczony i niekontrolowany rozwój nanotechnologii nie wprowadza zagrożeń dla żywych organizmów.

Odbiegając nieco od nanotechnologii, ale niezbyt daleko, bo technologie syntezy chemicznej polegają również na manipulowaniu atomami i grupami atomów w celu uzyskania określonej struktury molekularnej, można pokazać istotę zagrożeń przynoszonych przez nowe technologie. W 1874 roku Othmar Zeidler zsyntetyzował związek o potocznej nazwie DDT (dichlorodifenylotrichloroetan). Insektobójcze właściwości DDT zostały odkryte w 1939 roku przez szwajcarskiego uczonego Paula Hermana Müllera, który w 1948 roku otrzymał za to odkrycie Nagrodę Nobla w medycynie. Zastosowanie DDT do zwalczania moskitów w strefie tropikalnej pomogło siłom sprzymierzonym ograniczyć zachorowania na malarię i wygrać drugą wojnę światową, a odkrywcy przyniosło uznanie i Nagrodę Nobla. Środek ten stosowany był powszechnie prawie we wszystkich krajach świata. Także w Polsce, gdzie preparat DDT dostępny był pod nazwą handlową AZOTOX, rozpylono i wprowadzono do ekosfery olbrzymie jego ilości, głównie do zwalczania stonki ziemniaczanej. Wkrótce okazało się jednak, że na obszarach intensywnie traktowanych DDT dochodziło do masowego wymierania ryb i ptactwa, a później też innych zwierząt, co najpierw zwróciło uwagę biologów, a znacznie później – władz państw stosujących ten środek. Najdłużej na fakt toksyczności DDT nie zwracali uwagi jego producenci i dystrybutorzy. Dopiero Konwencja Sztokholmska (w sprawie trwałych zanieczyszczeń organicznych) podpisana w 2001 roku doprowadziła do ograniczenia produkcji i stosowania DDT.

Biorąc pod uwagę trwałość DDT (czas półtrwania szacowany jest na 20-30 lat), można powiedzieć, że w ekosferze i biosferze nadal znajdują się znaczne ilości tego związku. DDT podany w dużych dawkach wywołuje u ludzi ostre efekty toksyczne, w tym genotoksyczne, ale w małych dawkach

jest też odpowiedzialny za przewlekłe efekty toksyczne, a także efekty neuro-psychologiczne i psychiatryczne. Jest też zakwalifikowany jako prawdopodobny karcynogen. Ta krótka historia DDT, a także innych trwałych toksycznych substancji organicznych, powinna być ostrzeżeniem przed nieprzemyślanym i niekontrolowanym wprowadzaniem do ekosfery nowych produktów bio- i nanotechnologii. Trzeba pamiętać, że każda trwała substancja wprowadzona do ekosfery wcześniej czy później trafi do naszych organizmów przez łańcuch pokarmowy żywych organizmów.

! ODDZIAŁYWANIA NANOSTRUKTUR Z OBIEKTAMI BIOLOGICZNYMI

W dostępnym piśmiennictwie można znaleźć bardzo liczne doniesienia dotyczące oddziaływania nanostruktur z tkankami, komórkami i biocząsteczkami. Zwykle są to doniesienia o dużym potencjale aplikacyjnym w praktyce klinicznej. Warto zwrócić uwagę na prace prowadzone w zakresie wytwarzania biomimetyków, czyli syntetycznych struktur wykazujących wysoką aktywność biologiczną, analogiczną do naturalnych peptydów i białek, ale zdecydowanie większą trwałość w porównaniu do krótko żyjących w organizmie naturalnych biocząsteczek. Biorąc to pod uwagę, należy rozważyć możliwość, że nowo wytworzona nanostruktura może przypadkowo być biomimetykiem struktur białkowych istotnych dla prawidłowego funkcjonowania komórki i w ten sposób zaburzyć jej procesy życiowe.

Spróbujmy przeanalizować możliwe drogi oddziaływania nanostruktur z obiektami biologicznymi. Żeby wyobrazić sobie, w jaki sposób może dojść do takiego oddziaływania, przyjmijmy jako punkt wyjścia powierzchnię implantu kostnego wprowadzonego do organizmu. Oczywiście sam implant stanowi obiekt makroskopowy. Spróbujmy jednak wyobrazić sobie powierzchnię implantu w tysiącrotnym powiększeniu, czyli w skali mikrometrycznej. Zobaczymy wtedy ostrą granicę pomiędzy powierzchnią implantu i płynem ustrojowym, w którym obecne są swobodne komórki uwolnione z okolicznych tkanek. Z drugiej strony płyn

ustrojowy graniczy z tkanką kostną, która nie ma tak wyraźnie zaznaczonej granicy. Jeżeli miejsce obserwacji powiększymy kolejny tysiąc razy, to zaobserwujemy powierzchnię nanostrukturę implantu będącą w kontakcie z biomolekułami znajdującymi się w polarnym środowisku wodnym. Niektóre z tych biomolekuł znajdują się w bezpośrednim kontakcie z nanostrukturami powierzchni implantu, natomiast powierzchnia implantu może uwalniać do środowiska wodnego niewielkie fragmenty materiału, a w przypadku implantów metalowych – także jony metali. W rezultacie tych procesów uwolnione drobiny i jony stają się obiektami swobodnie migrującymi w organizmie, a na powierzchni implantu powstaje cienka warstwa biomolekuł, najczęściej białek, które pośredniczą w procesie przylegania komórek do powierzchni implantu.

Ten stosunkowo prosty obraz trzeba nieco skomplikować, biorąc pod uwagę różną zwilżalność wodą powierzchni implantu. Jeżeli powierzchnia jest hydrofilna, to białka znajdujące się w płynie ustrojowym mogą z dużą łatwością docierać do tej powierzchni ze środowiska wodnego, ale też mogą łatwo uwalniać się z tej powierzchni. Powstały biofilm białkowy może z łatwością ulegać zmianom, a cząsteczki białek zachowują swoją natywną strukturę oraz aktywność biologiczną i pośredniczą w kontakcie z powierzchnią komórek, głównie z ich aparatem receptorowym. Inaczej ma się sytuacja, gdy powierzchnia implantu jest hydrofobowa, co może być osiągnięte także przez odpowiednie zabiegi zmieniające jej nanostrukturę powierzchniową. W tej sytuacji kontakt ze środowiskiem wodnym jest utrudniony i biomolekuły znajdujące się w płynie ustrojowym nie mogą tak łatwo kontaktować się z powierzchnią hydrofobową. Nie oznacza to jednak, że na powierzchni hydrofobowej nie powstanie biofilm białkowy. Cząsteczki białek mają w swej strukturze aminokwasy posiadające grupy polarne lub obdarzone ładunkiem elektrycznym, ale też aminokwasy posiadające grupy niepolarne. W polarnym środowisku wodnym aminokwasy o cechach polarnych eksponowane są na zewnątrz cząsteczki i kontaktują się z cząsteczkami wody, natomiast niepolarne aminokwasy scho-

reklama


Anton Paar

Wiodące przyrządy do pomiaru gęstości DMA Generacji M

45 lat badań
i doświadczeń sprawia,
że już dziś spełniamy Twoje
przyszłe wymagania.


Anton Paar®

Poland Sp. z o.o.

Tel.: +48 22 395 53 90
info.pl@anton-paar.com
www.anton-paar.pl

▷ wane są we wnętrzu cząsteczki białkowej. Oddziaływanie z polarnym otoczeniem wody determinuje przestrzenną strukturę cząsteczek białkowych, a także ich aktywność biologiczną. W przypadku kontaktu cząsteczki białkowej z niepolarną (hydrofobową) powierzchnią implantu dochodzi do zmian struktury przestrzennej cząsteczki, a dotychczas schowane w jej wnętrzu obszary niepolarne eksponowane są na zewnątrz i wiążą się z hydrofobową powierzchnią implantu. W tym przypadku wiązanie cząsteczek białkowych przez obszary hydrofobowe jest bardziej trwałe, a struktura przestrzenna cząsteczki i jej aktywność biologiczna ulegają zmianom. Tak powstały biofilm białkowy również pośredniczy w kontakcie komórek z powierzchnią implantu, ale oddziaływanie to ma odmienny charakter ze względu na zmienione właściwości cząsteczek białkowych. Można zaryzykować twierdzenie, że skład chemiczny i nanostruktura powierzchni implantu mają decydujący wpływ na wynik kontaktu białek i komórek z tą powierzchnią, co można uogólnić na każdą nanostrukturę.

W przypadku oddziaływań nanostruktur z komórkami można oczekiwać obecności kilku niezależnych szlaków aktywacji odpowiedzi komórkowej na stres wynikający z tego kontaktu. W przypadku rozległych powierzchni o określonej nanostrukturze (jak ma to miejsce w przypadku powierzchni implantu) należy oczekiwać specyficznej aktywacji odpowiedzi komórkowej pośredniczonej przez receptory komórkowe oddziałujące z białkami biofilmu. Oprócz tego możliwa jest aktywacja receptorów przez przypadkowe mimetyczne efekty samych nanostruktur. Oprócz specyficznej aktywacji receptorów możliwe są też niespecyficzne mechanizmy oddziaływania białek zmienionych strukturalnie w wyniku kontaktu z nanostrukturą powierzchni. Mechanizmy te mogą współwystępować. W przypadku nanodrobin (także tych uwolnionych z powierzchni implantu) można oczekiwać podobnych mechanizmów aktywacji odpowiedzi komórkowej. Powierzchnia nanodrobin może być opłaszczona białkami, które mogą pośredniczyć w oddziaływaniu z receptorami, ale też mogą być obecne mimetyczne efekty oddziaływania nano-

struktury z receptorami. W odróżnieniu od dużych powierzchni nanomateriału możliwe jest wnikanie nanodrobin do wnętrza komórki i bezpośrednie oddziaływanie z różnymi białkami regulatorywnymi. W efekcie odpowiedzi na stres wynikający z kontaktu z nanostrukturą możliwa jest zmiana w poziomie ekspresji genów i wynikająca stąd zmiana w profilu białek komórkowych i uwalnianych na zewnątrz białek macierzy pozakomórkowej.

W literaturze dostępne są wyniki badań potwierdzające zmiany w ekspresji genów i w profilu proteomu wywołwane stresem wynikającym z kontaktu komórek z powierzchniami biomateriałów i nanomateriałów. Także nasze doświadczenie w tym zakresie potwierdza te obserwacje (przykładowo prace doktorskie: Piotr Komorowski: *Biotolerancja powierzchni materiałów w świetle badań molekularnych - transkryptomiki i proteomiki*, Politechnika Łódzka 2010, oraz Magdalena Walkowiak-Przybyło: *Biologiczna ocena stopów tytanu Ti6Al4V i Ti6Al7Nb pod kątem ich zastosowań medycznych*, Politechnika Łódzka 2013). Co więcej, zaobserwowaliśmy zdolność komórek do specyficznego rozpoznawania powierzchni biomateriału oraz nanocząstek, co stało się podstawą zgłoszenia patentowego (Walkowiak B., Komorowski P., Walkowiak-Przybyło M.: *Sposób identyfikacji produktów inżynierii materiałowej i nanotechnologii P399 899*, 2012). Należy zwrócić uwagę, że opisywane w literaturze efekty, a także nasze wyniki, dotyczą wczesnej metabolicznej odpowiedzi komórkowej obserwowanej po 24-48 godzinach ekspozycji komórek na stres. Na tym etapie badań nie można jednoznacznie stwierdzić, czy obserwowane zmiany wynikają z uruchomienia w komórce procesów adaptacyjnych i po pewnym czasie ustalą się nowe mechanizmy fizjologiczne uwzględniające długotrwały stres, czy też są to już trwałe zmiany w fizjologii komórki. Te interesujące wyniki stanowią dogodny punkt wyjścia do dalszych badań nad procesami adaptacyjnymi.

Warto zwrócić uwagę na możliwość występowania jeszcze jednego, potencjalnie bardzo ważnego, mechanizmu oddziaływania nanostruktur z białkami. Jak wspomniano powyżej, hydrofobowe powierzchnie nanostruktur mogą indu-

kować poważne zmiany w strukturze przestrzennej białek. Należy więc dopuścić i taką możliwość, że nanostruktura może przypadkowo posiadać właściwości indukowania specyficznych zmian w strukturze przestrzennej białka. Istnieje tu pewna analogia z indukcją zmiany formy fizjologicznej białka prionowego do formy infekcyjnej przez kontakt z formą infekcyjną tego białka. W ten sposób dochodzi do rozwoju choroby prionowej, prowadzącej do degeneracji tkanki nerwowej mózgu (choroba Creutzfeldta-Jakoba). W świetle powyżej przytoczonych argumentów wydaje się oczywiste, że kontakt białek z nanostrukturami również może skutkować indukcją zmian struktury przestrzennej i aktywności biologicznej wielu białek, co może być przyczyną wielu chorób o niezidentyfikowanej do tej pory etiologii. Oczywiście można postawić pytanie, dlaczego brak jest doniesień naukowych na ten temat. Odpowiedź jest banalnie prosta: do tej pory nikt nie badał możliwej indukcji zmian chorobowych przez obecność w biosferze nowych form nanostruktur. Dowodem nie wprost może być skuteczny środek farmakologiczny wspomagający procesy rozpoznania w demencji. Jest to PIROCETAM. Środek ten nie jest metabolizowany w organizmie i w całości wydalany jest z moczem w niezmienionej formie, a jednak wywiera pozytywny skutek terapeutyczny. Jest bardzo prawdopodobne, że to terapeutyczne działanie leku wynika z indukcji zmian konformacyjnych jakiegoś białka uczestniczącego w skomplikowanych procesach rozpoznawania.

OCENA ZAGROŻEŃ – ROLA LABORATORIUM BMIN BIONANOPARKU

Przytoczone powyżej argumenty wydają się na tyle istotne, że znalazły zrozumienie w trakcie oceny projektu BioNanoPark realizowanego obecnie w Łódzkim Regionalnym Parku Naukowo-Technologicznym. Jednym z dwóch laboratoriów powstałych w BioNanoParku jest Laboratorium Biofizyki Molekularnej i Nanostrukturalnej, którego jednym z najważniejszych celów jest ocena zagrożenia ze strony nowych produktów nowoczesnych technologii materiałowych, biologicznych i chemicznych, w tym nanotechnologii. Wyposażenie

laboratorium i wypracowana strategia działania pozwalają na prześledzenie odpowiedzi komórki na stres spowodowany ekspozycją na te nowe produkty. Obecnie trwają jeszcze ostatnie szkolenia personelu laboratorium w zakresie obsługi wysoce specjalistycznego sprzętu, a jednocześnie trwają pilotowe eksperymenty mające na celu ocenę metabolicznej odpowiedzi komórek na stres wywołany kilkoma rodzajami nanostruktur. Zgromadzone do tej pory wyniki w pełni potwierdzają dotychczasowe obserwacje i pozwalają tworzyć załączek bazy danych gromadzącej pełną informację o nanostrukturach i odpowiedzi komórkowej w ściśle zdefiniowanych warunkach ich wzajemnego kontaktu. W przyszłości baza ta umożliwi wykorzystanie odpowiedzi komórkowej do monitorowania obecności skomplikowanych nanostruktur i ich identyfikowania nawet wtedy, gdy zawiodą metody fizykochemiczne.

PODSUMOWANIE

Fascynujące właściwości nanostruktur i niemal nieograniczone możliwości ich wytwarzania i wykorzystania sprzyjają intensywnemu rozwojowi technologicznemu. Deklarowane cele tego rozwoju to: lepsze zaspokojenie potrzeb społeczeństw, poprawa konkurencyjności gospodarek, a także rozwój nowatorskich technologii medycznych umożliwiających znaczące wydłużenie życia i poprawę jakości tego życia. Istnieje jednak obawa, że niekontrolowany rozwój nanotechnologii, chociaż dostarczy nowych impulsów rozwoju gospodarczego i społecznego, może jednocześnie przyczynić się do zachwiania delikatnych relacji pomiędzy organizmami w biosferze i pogorszenia stanu zdrowia społeczności ludzkiej. Niekorzystne, a nawet groźne zmiany w fizjologii komórek i całych organizmów mogą być spowodowane wprowadzeniem do ekosfery, a w wyniku tego i do biosfery, produktów nanotechnologii o nieprzewidywanym potencjale bioaktywności.

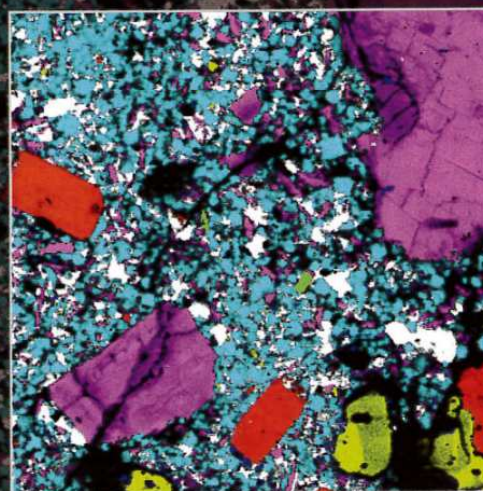
Aby temu zapobiec, albo chociaż ograniczyć to zagrożenie, niezbędna jest rzetelna ocena stosunku korzyści do zagrożeń dla każdego nowego produktu nanotechnologii. Przykładem mogą być rozwiązania przyjęte w przemyśle farmaceutycznym. Przed wprowadzeniem na rynek nowej substancji leczniczej prowadzone są długotrwałe i rozległe badania, poczynając od podstawowych, poprzez przedkliniczne, a następnie kolejne fazy badań klinicznych. Zgromadzone informacje pozwalają na dokonanie rzetelnej oceny korzyści i zagrożeń, wskazań i ograniczeń w stosowaniu klinicznym, a także wskazanie możliwych działań ubocznych. Następnie, już po wprowadzeniu substancji na rynek, gromadzone są informacje o skuteczności leku i ewentualnych negatywnych skutkach jego przyjmowania. Zdarza się, że po kilku latach obecności leku na rynku okazuje się, że powoduje on bardzo groźne komplikacje zdrowotne nie zauważone w procesie jego wdrażania. Lek taki eliminowany jest z obrotu, choć zgromadzona wiedza o samym leku i jego działaniach pożądanym i niepożądanym jest nieoceniona w pracach nad kolejnymi substancjami leczniczymi.

Działanie naszego laboratorium umożliwia wykonanie charakterystyki nowych produktów nanotechnologii, której wyniki umożliwią producentowi podjęcie właściwej decyzji o kontynuacji lub zaprzestaniu prac wdrożeniowych nowego produktu. Wierzymy, że taki sposób pojmowania odpowiedzialnego rozwoju nanotechnologii zabezpieczy nas przed zagrożeniem trudnym do identyfikacji przez nasze zmysły. □

reklama

RENISHAW
apply innovation™

See things in a different light



Mineral section

There are many ways to identify and analyse materials. Raman chemical imaging uses scattered light to help you understand their structure and composition.

Renishaw has decades of experience developing research grade Raman microscopes that can generate chemical images. We do Raman because it's fast, yet gentle and highly specific.

With the inVia Raman microscope, you can see the small things, the large things and things you didn't even know were there.

Discover more with inVia

Renishaw Sp. z o.o. ul. Osmańska 12, 02-823 Warszawa
T +48 22 577 11 80 F +48 22 577 11 81
E poland@renishaw.com
www.renishaw.pl

AD065-01-A