

Magdalena Matysiak¹
Marcin Kruszewski^{1,2}
Lucyna Kapka-Skrzypczak^{1,3}

NANOPESTYCYDY – JASNA CZY CIEMNA STRONA MOCY?

NANOPESTICIDES – LIGHT OR DARK SIDE OF THE FORCE?

¹ Instytut Medycyny Wsi / Institute of Rural Health, Lublin, Poland

Zakład Biologii Molekularnej i Badań Translacyjnych / Department of Molecular Biology and Translational Research

² Instytut Chemii i Techniki Jądrowej / Institute of Nuclear Chemistry and Technology, Warszawa, Poland

Centrum Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej / Center for Radiobiology and Biological Dosimetry

³ Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania z siedzibą w Rzeszowie / University of Information Technology and Management in Rzeszow, Rzeszów, Poland

Wydział Medyczny, Katedra Biologii Medycznej i Badań Translacyjnych / Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Translational Research

STRESZCZENIE

Nanotechnologia znalazła zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, m.in. w rolnictwie, gdzie nanomateriały służą jako nośniki chemicznych środków ochrony roślin, a także jako substancje aktywne pestycydów. Nieznane są jednak skutki ekspozycji człowieka na działanie nanopestycydów. Grupą, której ze względu na wykonywany zawód powinno się poświęcić szczególną uwagę, są rolnicy. W niniejszej pracy podsumowano kierunki wykorzystania nanocząstek w rolnictwie, drogi narażenia pracowników rolnych na ich działanie oraz aktualny stan wiedzy na temat toksyczności nanomateriałów wobec komórek ssaków. Przedstawiono także techniki detekcji nanocząstek w środowisku pracy oraz biomarkery służące ocenie narażenia i skutków ekspozycji. Wyniki przeglądu wskazują, że użycie zdobycy nanotechnologii w rolnictwie może przynieść wymierne korzyści w postaci zmniejszenia ilości stosowanych chemicznych środków ochrony. W literaturze nie ma jednak badań określających, czy stosowanie nanocząstek jako nośników nie zwiększa efektów szkodliwego działania pestycydów na ludzki organizm. Ponadto wyniki badań na liniach komórkowych oraz modelach zwierzęcych świadczą, że nanocząstki stosowane jako substancje aktywne mogą być toksyczne dla komórek ssaków. Zauważalny jest jednocześnie zupełny brak badań epidemiologicznych dotyczących tego zagadnienia. Wydaje się, że w najbliższym czasie skutki ekspozycji na nanopestycydy mogą wymagać szczególnej uwagi nie tylko środowiska naukowego, ale także lekarzy opiekujących się pracownikami rolnymi i ich rodzinami. Med. Pr. 2017;68(3):423–432

Słowa kluczowe: nanocząstki, narażenie zawodowe, biomarkery, pestycydy, detekcja, toksyczność

ABSTRACT

Nanotechnology has been used in many branches of industry, including agriculture, where nanomaterials are used as carriers of chemical plant protection compounds, as well as active ingredients. Meanwhile, the effects of nanopesticides exposure on the human body are unknown. Due to their occupation, farmers should be particularly monitored. This paper summarizes the use of nanoparticles in agriculture, the route of potential exposure for agricultural workers and the current state of knowledge of nanopesticides toxicity to mammalian cells. The authors also discuss techniques for detecting nanoparticles in the workplace, as well as biomarkers and effects of exposure. The results of this review indicate that the use of nanotechnology in agriculture can bring measurable benefits by reducing the amount of chemicals used for plant protection. However, there is no research available to determine whether or not the use of pesticide nanoformulations increases the harmful effects of pesticides. Moreover, the results of research on cell lines and in animal models suggest that nanoparticles used as active substance are toxic to mammalian cells. Interestingly, there is also a complete lack of epidemiological studies on this subject. In the nearest future the effects of exposure to nanopesticides may require a particular attention paid by scientists and medical doctors who, treat agricultural workers and their families. Med Pr 2017;68(3):423–432

Key words: nanoparticles, occupational exposure, biomarkers, pesticides, detection, toxicity

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Lucyna Kapka-Skrzypczak, Instytut Medycyny Wsi,

Zakład Biologii Molekularnej i Badań Translacyjnych, ul. Jaczewskiego 2, 20-090 Lublin, e-mail: lucynakapka@gmail.com

Nadesłano: 19 lipca 2016, zatwierdzono: 1 września 2016

WSTĘP

Mimo niezaprzeczalnych korzyści ekonomicznych stosowanie pestycydów wiąże się z występowaniem wielu niepożądanych skutków ubocznych, w tym szkodliwe-

go oddziaływania na zdrowie i życie człowieka. Grupą szczególnie narażoną na ich działanie są rolnicy i ich rodziny, eksponowani na pestycydy podczas prac polowych, w szklarniach czy ogrodach. Dodatkowo, z racji mieszkania na terenach wiejskich, w trakcie zabiegów

chemizacyjnych wdychają oni powietrze zawierające pestycydy. Także woda pitna na terenach rolniczych jest zagrożona skażeniem ze względu na przedostawanie się pestycydów do wód powierzchniowych i gruntowych. Ponadto, podobnie jak reszta społeczeństwa, rolnicy są narażeni na spożywanie pozostałości pestycydów w żywności.

Od kilku dekad obserwujemy gwałtowny rozwój nanotechnologii w wielu gałęziach przemysłu i w rolnictwie. Nanomateriały mogą pełnić funkcję nośników tradycyjnych pestycydów, ale także, ze względu na swoje właściwości przeciwdrobnoustrojowe, stanowić substancję aktywną *per se*. Niestety, mimo zwiększającego się użycia nanomateriałów, ciągle niejasny pozostaje ich wpływ na ludzki organizm. Celem niniejszej pracy jest podsumowanie wykorzystania nanocząstek w rolnictwie i charakterystyka skutków zdrowotnych wynikających z narażenia pracowników rolnictwa na ich działanie.

METODY PRZEGLĄDU

Przeładowanie literatury dokonano na podstawie bibliograficzno-abstraktowej bazy czasopism recenzowanych z dziedziny medycyny i nauk pokrewnych – PubMed/MEDLINE. W trakcie wyszukiwania piśmiennictwa wykorzystano następujące słowa kluczowe i ich kombinacje: *nanopesticides* (nanopestycydy), *pesticides* (pestycydy), *nanoparticles* (nanocząstki), *routes of exposure* (drogi narażenia), *toxicity* (toksyczność), *prenatal exposure* (narażenie prenatalne), *fertility* (płodność), *detectors* (detektory), *biomarkers* (biomarkery). Praca obejmuje piśmiennictwo w języku angielskim, opublikowane między lutym 2004 r. a kwietniem 2016 r. Większość cytowanych artykułów stanowiły prace oryginalne, uwzględniono jednak również pojedyncze artykuły poglądowe.

WYNIKI PRZEGLĄDU

Nanocząstki jako nośniki pestycydów i substancje aktywne

Mimo niewątpliwych korzyści płynących z ich użycia pestycydy są substancjami szkodliwymi zarówno dla środowiska naturalnego, jak i organizmów żywych. Dlatego rozważane są wszelkie działania mające na celu ograniczenie ich stosowania. Na przestrzeni ostatnich lat opublikowano wiele prac dotyczących wykorzystania nanotechnologii w rolnictwie. Produkty oparte na zdobyciach nanotechnologii określa się mianem na-

nopestycydów, choć definicja tego terminu pozostaje dyskusyjna, a samo określenie obejmuje szeroką gamę produktów. W głównej mierze nanomateriały znalazły zastosowanie jako nośniki klasycznych środków ochrony roślin. Prowadzone są także prace dotyczące działania nanocząstek jako substancji aktywnych pestycydów.

Zastosowanie nanocząstek jako nośników tradycyjnych pestycydów pozwala m.in. na zwiększenie ich rozpuszczalności i kontrolowane uwalnianie substancji aktywnej. Zapewnia także większą stabilność stosowanych środków oraz ochronę przed ich przedwczesną degradacją. W konsekwencji można ograniczyć nie tylko częstotliwość stosowania pestycydów, ale także ich ilość, ponieważ mniejsza ilość czynnika aktywnego pozwala na osiągnięcie podobnego efektu biologicznego. W tabeli 1. przedstawiono przykłady zastosowania nanocząstek jako nośników pestycydów. Przyjętym kryterium podziału stosowanych nanomateriałów była ich budowa chemiczna.

Z kolei nanocząstki nieorganiczne wykazują silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe, przez co mogą być wykorzystywane jako substancje aktywne. Najsilniejszym działaniem tego typu cechują się nanocząstki srebra. Badania wykazały, że nanocząstki srebra działają antybakteryjnie, przeciwgrzybiczo oraz antywirusowo [10–12] wobec patogenów roślinnych. Właściwości antybakteryjne i przeciwgrzybicze cechują także inne nanomateriały, takie jak nanocząstki miedzi metalicznej [11,13], dwutlenku tytanu [14] czy tlenku cynku [15]. Ponadto nanocząstkowy tlenek krzemu [16,17], nanosrebro [17] czy nanoaluminium [18] wykazują silne działanie insektobójcze.

Przewagą nanocząstek nad stosowanymi przez lata chemicznymi środkami ochrony roślin jest brak oporności szkodników na ich działanie. Nabycie oporności jest najczęściej skutkiem mutacji punktowych, które mogą zmieniać strukturę białek i np. powodować zmiany funkcjonalne białek enzymatycznych. Mutacje mogą też zwiększać ekspresję genów kodujących białka odpowiedzialne za detoksykację substancji aktywnej [19]. Zdolne do rozrodu szkodniki umacniają oporność populacji, czego rezultatem jest niekontrolowany wzrost ilości chwastów czy liczby insektów. Rolnicy starają się opóźnić rozwój oporności, stosując naprzemiennie różne klasy środków chemicznych oraz ich mieszaniny. Niestety ekspozycja pracowników na działanie większego spektrum substancji i może zwiększać efekt toksyczny w porównaniu z narażeniem na pojedyncze pestycydy [20].

Tabela 1. Przykłady użycia nanocząstek jako nośników pestycydów – na podstawie przeglądu literatury z okresu luty 2014 – kwiecień 2016
Table 1. Examples of using nanoparticles as carriers of pesticides – based on the literature review covering the period from February 2014 to April 2016

Rodzaj nanocząstek Type of nanoparticles	Substancja aktywna Active ingredient	Korzyści zastosowania nanocząstek jako nośników pestycydów Benefits of using nanoparticles as carriers of pesticides	Piśmiennictwo References
Bazujące na polimerach / Based on polymers			
nanożele / nanogels	olej z kminu rzymskiego / cumin oil	wydłużenie trwałości preparatu, wzrost aktywności pestycydu w stosunku do organizmu modelowego / extending product durability, increased pesticide activity against model organism	1
nanokapsułki / nanocapsules	acetamipryd / acetamiprid	kontrolowane uwalnianie / controlled release	2
nanosfery / nanospheres	karbendazym / carbendazim	wydłużenie trwałości preparatu / extending product durability	3
micele polimerowe / polymeric micelles	geraniol, octan geranylu / geraniol, geranyl acetate	wzrost aktywności pestycydu w stosunku do organizmu modelowego / increased pesticide activity against model organism	4
Bazujące na lipidach / Based on lipids			
stałe lipidowe nanocząstki / solid lipid nanoparticles	atrazyna, symazyna / atrazine, simazine	kontrolowane uwalnianie, wzrost aktywności pestycydu w stosunku do organizmu modelowego / extending product durability, increased pesticide activity against model organism	5
Porowate materiały nieorganiczne / Porous inorganic materials			
porowate nanocząstki krzemionki / porous silica nanoparticles	abamektyna / abamectin	kontrolowane uwalnianie, zwiększenie fotostabilności i rozpuszczalności / controlled release, increasing photostability and enhanced solubility	6
Glinokrzemiany i ich pochodne / Aluminum silicates and their derivatives			
glinokrzemiany / aluminum silicates	etofumesat / ethofumesate	kontrolowane uwalnianie, zwiększenie fotostabilności, wzrost aktywności pestycydu w stosunku do organizmu modelowego / controlled release, increasing photostability, increased pesticide activity against model organism	7
podwójne warstwowe wodorotlenki / layered double hydroxides	cypermetryna / cypermethrin	kontrolowane uwalnianie / controlled release	8
Inne / Others			
nanorurki węglowe / carbon nanotubes	zineb, mankozeb / zineb, mancozeb	zwiększenie rozpuszczalności, wzrost aktywności pestycydu w stosunku do organizmu modelowego / enhanced solubility, increased pesticide activity against model organism	9

Zagrożenia związane ze stosowaniem nanopestycydów

Nanocząstki stosowane jako nośniki pestycydów to przede wszystkim materiały bazujące na polimerach. Pod względem toksykologicznym główny efekt toksyczny tych form jest związany z użyciem substancji aktywnej, jednak zastosowanie takiej postaci użytkowej może istotnie zmieniać parametry tradycyjnych pestycydów. Nie jest wykluczone, że zmieniają się szybkość i skala ich

rozprzestrzeniania w środowisku, czego nie uwzględniają obecne normy. Stanowi to dodatkowe zagrożenie dla osób zamieszkujących tereny wiejskie. Nie wiadomo także, jakie są losy nanopestycydów w środowisku. Istnieje niebezpieczeństwo, że ich retencja w środowisku może się różnić od retencji tradycyjnych pestycydów. Klasyczne środki ochrony roślin dzięki nanocząsteczkowym nośnikom mogą łatwiej przenikać w głąb ziemi i przedostawać się do strumieni i warstw wodonośnych,

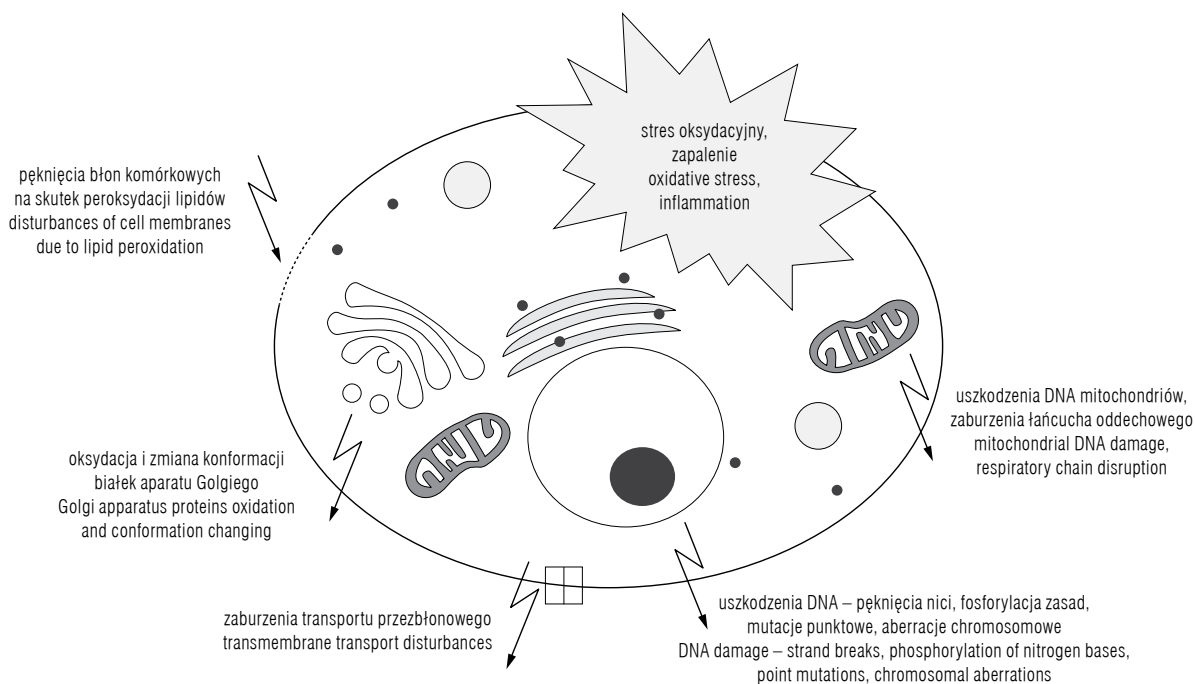
a więc w większej ilości trafiać do wód pitnych [21]. Jednocześnie nie można wykluczyć, że nanocząstki lub ich pozostałości będą w środowisku oddziaływać z innymi szkodliwymi substancjami. Dzięki nanocząstkom substancje takie mogłyby dłużej utrzymywać się w środowisku, a także zwiększyć swoją biodostępność.

Nieco rzadziej jako nośniki tradycyjnych środków ochrony roślin są używane nanocząstki nieorganiczne. One z kolei częściej są stosowane jako środki ochrony roślin *per se*. Stwierdzono, że różne rodzaje nanocząstek przenikają do komórek ssaków, wpływając na ich funkcje (ryc. 1). Badania *in vitro* na liniach komórkowych oraz badania na modelach zwierzęcych wskazują, że nanocząstki indukują w komórkach nadmierną produkcję reaktywnych form tlenu (reactive oxygen species – ROS), co prowadzi do stresu oksydacyjnego. Ponadto wywołują proces zapalny i działają szkodliwie na materiał genetyczny, prowadząc do apoptozy i wywołując efekt cytotoksyczny [22–25]. Wszystkie te czynniki nie pozostają bez wpływu na ludzki organizm, gdyż są związane z takimi procesami jak kancerogeneza czy neurodegeneracja. W przypadku łączenia nanocząstek metalicznych czy bazujących na węglu z tradycyjnie stosowanymi pestycydami nie można z kolei wykluczyć efektu synergistycznego i zwiększenia toksyczności w stosunku do pojedynczych substancji.

Drogi narażenia

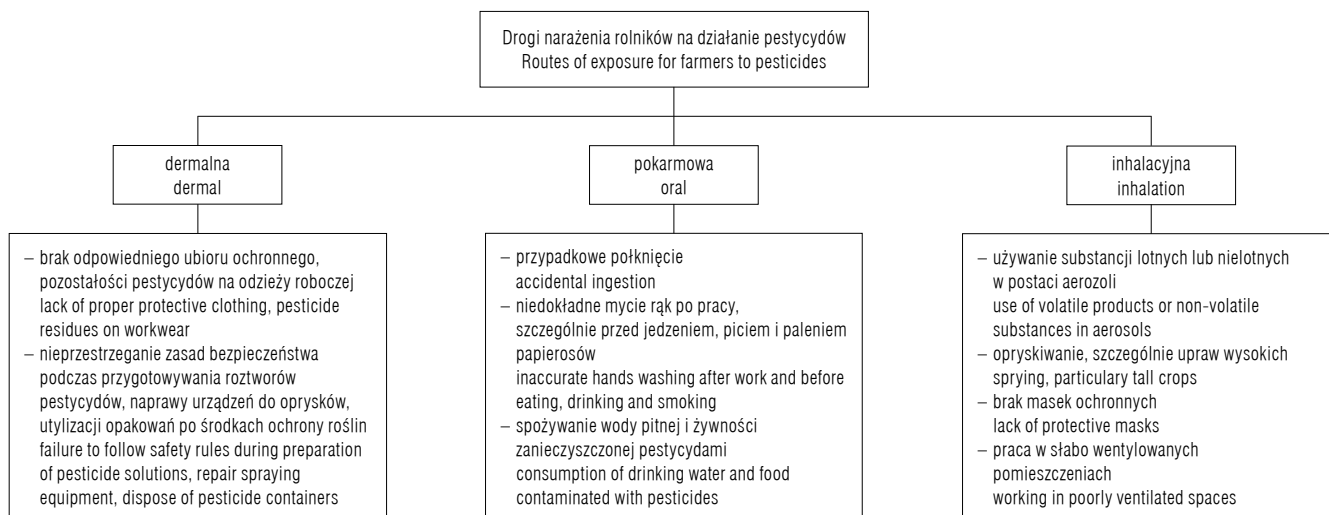
Osoby pracujące w rolnictwie powinny przestrzegać wszelkich zasad prawidłowej pracy ze środkami ochrony roślin, żeby maksymalnie ograniczyć ryzyko ekspozycji na ich działanie. Istnieje jednak wiele sytuacji, podczas których szkodliwe substancje mogą się dostać do ich organizmu (ryc. 2).

Obecnie stosowane pestycydy, na czele ze związkami fosforoorganicznymi, to substancje dobrze rozpuszczalne w tłuszczach. Właściwość ta powoduje, że łatwo przenikają przez barierę skórną, a ekspozycja dermalna jest uważana za najważniejszą drogę ekspozycji pracowników rolnych na działanie środków ochrony roślin. Z kolei nanocząstki na bazie polimerów stosowane jako nośniki pestycydów, nanocząstki nieorganiczne i materiały bazujące na węglu charakteryzują się słabym przenikaniem przez barierę skórną. Tylko w niewielkim stopniu przechodzą one przez warstwę rogową naskórka, nie docierając do dalszych warstw skóry. Jednocześnie mogą kumulować się w mieszkach włosowych [26]. Pestycydy stosowane jako substancje aktywne mogą jednak uwalniać się z nośnika i przenikać barierę skórną. Z kolei nanocząstki lipidowe w wyniku kontaktu z lipidami zawartymi w skórze tracą swoją stabilność, przez co mogą zwiększać penetrację skóry przez substancję aktywną [27]. Wszelkie uszko-



Ryc. 1. Potencjalny wpływ działania nanomateriałów na komórki ssacze – na podstawie przeglądu literatury z okresu luty 2014 – kwiecień 2016

Fig. 1. The potential impact of nanomaterials on mammalian cells – based on the literature review covering the period from February 2014 to April



Ryc. 2. Drogi narażenia rolników na działanie nanopestycydów – na podstawie przeglądu literatury z okresu luty 2014 – kwiecień 2016
Fig. 2. Routes of farmers exposure to nanopesticides – based on literature review from February 2014 to April 2016

dzenia bariery skórnej wzmagają oczywiście penetrację nanocząstek do krwiobiegu i ich potencjalną translokację w organizmie. To, że nanocząstki słabo przenikają przez skórę, nie pozwala na jednoznaczne wykluczenie ich toksyczności, szczególnie że nieznane są skutki długotrwałej ekspozycji na nanocząstki. Pojedyncze badania na modelach zwierzęcych wskazują, że np. nanocząsteczkowy dwutlenek tytanu używany w kremach promieniochronnych może indukować stres oksydacyjny, zmniejszać ilość kolagenu i przyspieszać proces starzenia się skóry [28]. Ponadto niektóre nanocząstki działają antybakteryjnie, istnieje więc niebezpieczeństwo, że będą zaburzać naturalną mikroflorę skóry. Jak dotąd w badaniach z udziałem ludzi nie zaobserwowano jednak tego zjawiska ani zwiększonego zasiedlenia drobnoustrojów chorobotwórczych wskutek dermalnej ekspozycji na działanie nanocząstek [29].

Środki ochrony roślin mogą dostawać się do organizmu pracowników rolnych także drogą inhalacyjną. U osób narażonych na zawodowy kontakt z pestycydami istnieje podwyższone ryzyko wystąpienia chorób układu oddechowego – astmy oskrzelowej, przewlekłego zapalenia oskrzeli czy przewlekłej obturacyjnej choroby płuc. Podejrzewa się ponadto, że kontakt z pestycydami jest czynnikiem środowiskowym stymulującym rozwój nowotworów płuc, choć wyniki badań nie są jednoznaczne [30]. Istnieje niebezpieczeństwo, że stosowanie nanocząstek jako nośników pestycydów może się przyczynić do zwiększenia narażenia na działanie pestycydów drogą inhalacyjną. Dzięki niskiej masie i niewielkim rozmiarom formy te długo utrzy-

mują się w powietrzu, a wdychane mogą docierać nie tylko do górnych, ale i dolnych odcinków dróg oddechowych, ostatecznie osadzając się w płucach. Wykazano, że niektóre rodzaje nanocząstek (np. nanorurki węglowe) powodują proces zapalny, uruchomienie odpowiedzi immunologicznej i włóknienie płuc w modelach zwierzęcych [31]. Potencjalnie niebezpieczne są także nanocząstki metaliczne. Na przykład nanocząstki niklu indukują w komórkach płuc zwierząt doświadczalnych stres oksydacyjny i zaburzenie procesów przeciwutleniających [32]. Wciąż nie jest jasne, w jakim stopniu nanocząstki przemieszczają się z płuc do innych narządów i czy narażenie inhalacyjne powoduje skutki ogólnoustrojowe. Wyniki badań na zwierzętach wskazują, że niewielka ilość nanocząstek wchłanianych drogą inhalacyjną gromadzi się w wątrobie i nerkach [33,34]. Poza szkodliwym wpływem na układ oddechowy wziewne nanocząstki mogą uzyskać dostęp do ośrodkowego układu nerwowego [35]. Układ ten jest z kolei wyjątkowo podatny na działanie szkodliwych substancji, prowadzących do jego uszkodzenia lub zaburzenia czynności. Każda droga ekspozycji, która prowadzi do obecności nanocząstek w krwiobiegu, jest niebezpieczna, gdyż mogą one przekraczać barierę krew–mózg [36].

Ostatnim typem ekspozycji jest droga pokarmowa. Pestycydy, choć w największej ilości absorbowane w jelitach, mogą być wchłaniane na całej długości przewodu pokarmowego. Kinetyka działania nanocząstek w ludzkim organizmie pozostaje w fazie badań. Obserwacje na zwierzętach wskazują, że nanocząstki

mogą przechodzić z przewodu pokarmowego do układu krążenia, a stamtąd do innych narządów. Na przykład nanocząstki srebra podane zwierzętom doświadczalnym drogą pokarmową gromadzą się w wątrobie i nerkach, w mniejszej ilości w płucach, mózgu i śledzionie [37], a ich obecność została też potwierdzona w takich organach jak pęcherz moczowy, nadnercza, grasicca, jądra i jajniki [38,39]. Badania wykazały, że u zwierząt narażonych na nanocząstki podane drogą pokarmową występują zaburzenia parametrów morfologicznych, a także zmiany aktywności enzymów wątrobowych [40,41]. Nanocząstki wychwytywane są także przez jelita, co stwarza potencjalne zagrożenie, że będą one negatywnie wpływać na prawidłową florę bakteryjną człowieka.

Wpływ na płodność i zdrowie potomstwa

Pestycydy to środki o udowodnionym szkodliwym wpływie na płodność u mężczyzn [42]. Ponadto przenikają one przez łożysko, a prenatalna ekspozycja na działanie środków ochrony roślin ma związek z poronieniami, poważnymi wadami rozwojowymi płodu [43], nowotworami wieku dziecięcego [44] czy zaburzeniami neurologicznymi [45]. Ważne jest, żeby pary zawodowo zajmujące się rolnictwem zachowały szczególną ostrożność w czasie planowania powiększenia rodziny i podczas samej ciąży. Wpływ nanomateriałów na płodność i zdrowie potomstwa nie został jak dotąd dokładnie przebadany. Pierwsze badania na zwierzętach wykazały, że nanocząstki projektowane, zaburzając proces spermatogenezy i obniżając parametry nasienia, wpływają na płodność męskich osobników [46–49]. Ponadto różne rodzaje nanocząstek – m.in. nanocząstki srebra [50] i złota metalicznego [51], a także nieorganicznej krzemionki [52] – przenikają przez łożysko. Konieczne wydają się więc dalsze intensywne prace, mające na celu określenie związku między prenatalną ekspozycją na nanocząstki a zdrowiem potomstwa.

Detekcja nanocząstek i biomarkery narażenia na ich działanie

Stosowanie nanopestycydów wiąże się potencjalnym uwalnianiem substancji aktywnej do otoczenia. Obecność pozostałości pestycydów w żywności czy wodzie pitnej podlega ścisłym normom unijnym. Dostępnych jest wiele zwalidowanych metod ich oznaczania, na czele z technikami chromatograficznymi, spektrometrią mas, ale także prostszych i pozwalających na szybką detekcję technikami immunologicznymi czy

enzymatycznymi. Detekcja nanocząstek jest tematyką nową i brakuje regulacji dotyczących oceny ryzyka narażenia na ich działanie. Wykrywanie pozostałości nanocząstek w złożonych matrycach, jak woda pitna czy próbki żywności, jest problematyczne, gdyż ze względu na zbyt małe rozmiary niemożliwe jest określenie liczby nanocząstek metodami instrumentalnymi, wykorzystującymi zjawisko rozszczepienia światła. Stwarza to problemy natury technicznej i konieczność doboru odpowiedniej aparatury pomiarowej. Wykorzystywane są inne, wymagające specjalistycznego sprzętu techniki pomiarowe, tj. określanie wielkości cząstek na podstawie ruchów Browna, rezonansowa spektroskopia Ramana czy różne odmiany mikroskopii elektronowej. Problemатyczne jest także oznaczanie nanocząstek w badanym powietrzu. Nanocząstki projektowane są jedynie niewielką frakcją nanocząstek występujących w powietrzu. Ponadto, ze względu na małą masę, nanocząstki charakteryzuje niewielkie stężenie masowe w badanym układzie, co uniemożliwia ich oznaczenie metodą wagową. Z tego samego względu trudne jest ich odróżnienie od nanocząstek występujących naturalnie w przyrodzie oraz tych pochodzenia antropologicznego. Dość powszechnie stosowaną metodą jest użycie liczników neutralnych jąder kondensacji, w których technikami optycznymi oznacza się kropelki powstające na nanocząstkach w atmosferze przesyconych par alkoholu. Używane są także systemy oparte na pomiarze elektrycznej ruchliwości cząstek lub ich aktywności katalitycznej, a także różne odmiany spektrometrii mas [53,54]. Ze względu na małą liczbę przeprowadzonych badań obecne metody wykrywania nanocząstek nie są zweryfikowane, a ich wyniki – mało porównywalne.

Z toksykologicznego punktu widzenia niezwykle istotny jest monitoring biologiczny, pozwalający na ocenę dawki wchłoniętych szkodliwych substancji i oszacowanie ryzyka dla zdrowia. W tym celu oznaczane są tak zwane biomarkery ekspozycji. Mogą być nimi zarówno stężenia substancji szkodliwych, jak i ich metabolitów, produktów interakcji z docelowymi substancjami. W przypadku pestycydów oznaczane są one głównie w moczu i krwi, ale także we włosach, ślinie czy pocie [55]. W przypadku nanocząstek metali i ich tlenków biomarkerami ekspozycji mogą być stężenia odpowiadających im metali, powstających na skutek przemian metabolicznych nanocząstek. Można je oznaczać w takich materiałach biologicznych, jak krew, osocze, mocz i kał, co potwierdzono nie tylko w badaniach na zwierzętach, ale także w badaniach z udziałem ochotników [56,57].

Oznaczanie biomarkerów ekspozycji jest jednak rzadko wykorzystywane w praktyce klinicznej. Ważnym elementem nadzoru nad zdrowiem rolników narażonych na działanie środków ochrony roślin jest natomiast oznaczanie biomarkerów efektu – mierzalnych zmian w organizmie osoby narażonej. Biomarkery te służą zaplanowaniu leczenia i określeniu rokowania. W przypadku nanocząstek biomarkerami efektu mogą być parametry świadczące o obecności stresu oksydacyjnego i zapalenia, a także markery genotoksyczności. Do proponowanych markerów efektu można zaliczyć m.in. stężenie cytokin prozapalnych, np. interleukiny 6 lub czynnika martwicy nowotworu, czy określenie odsetka komórek subpopulacji CD4 i CD8 limfocytów T – odgrywających ważną rolę w działaniu układu odpornościowego [58,59]. Biomarkerami efektu są także parametry świadczące o wystąpieniu stresu oksydacyjnego, m.in. aktywności enzymów antyoksydacyjnych – glutationu czy dysmutazy ponadtlenkowej, a także stężenie dialdehydu malonowego, będącego produktem peroksydacji lipidów [60]. Do biomarkerów efektu zaliczamy także czynniki świadczące o genotoksyczności nanomateriałów, takie jak stopień fragmentacji DNA czy poziom uszkodzeń chromosomów badany testem mikrojądrowym [61]. Poszukiwane są również inne biomarkery, do których oznaczenia wykorzystuje się techniki z grupy „-omik”, na czele z proteomiką, genomiką czy metabolomiką. Pozostają one jednak dopiero w fazie badań.

WNIOSKI

Zastosowanie w rolnictwie zdobyczy nanotechnologii to stosunkowo młoda dziedzina. Brakuje odpowiednich norm, które regulowałyby standardy obowiązujące przy ich stosowaniu. Choć w krajach członkowskich UE i Szwajcarii pojawiają się pierwsze regulacje dotyczące tego zagadnienia, inne państwa dysponują jedynie ogólnymi wytycznymi dla szeroko pojętego przemysłu [62]. Nie opublikowano też badań określających bezpieczeństwo stosowania nanopestycydów dla środowiska, ale przede wszystkim brakuje prac określających ich wpływ na zdrowie człowieka. Z racji wykonywanego zawodu grupą szczególnie narażoną są rolnicy. Istotne wydaje się prowadzenie intensywnych badań określających, czy stosowanie nanocząstek jako nośników pestycydów nie zwiększa efektów szkodliwego działania chemicznych środków ochrony roślin wobec ludzkiego organizmu. Nieznany jest też wpływ nanocząstek stosowanych jako substancja aktywna

per se, choć wyniki badań *in vitro* na modelach komórkowych oraz badania na zwierzętach wskazują, że różne rodzaje nanocząstek wykazują działanie toksyczne wobec komórek ssaków. Nie przeprowadzono jednak badań *in vivo* w populacji ludzkiej ani dużych badań epidemiologicznych.

Niniejszy artykuł ma na celu zwrócenie uwagi klinicystów mających pod swoją opieką pracowników rolnictwa i ich rodziny na problem, jakim jest narażenie na działanie nanopestycydów. W związku ze wzrostem wykorzystania nanotechnologii w rolnictwie nieznane dotąd skutki ekspozycji na te nowoczesne ksenobiotyki środowiskowe mogą bowiem wymagać w najbliższych latach szczególnej uwagi zarówno badaczy, jak i lekarzy.

PIŚMIENNICTWO

1. Ziaee M., Moharramipour S., Mohsenifar A.: MA-chitosan nanogel loaded with *Cuminum cyminum* essential oil for efficient management of two stored product beetle pests. *J. Pest Sci.* 2014;87(4):691–699, <https://doi.org/10.1007/s10340-014-0590-6>
2. Kumar S., Chauhan N., Gopal M., Kumar R., Dilbaghi N.: Development and evaluation of alginate-chitosan nanocapsules for controlled release of acetamiprid. *Int. J. Biol. Macromol.* 2015;81:631–637, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.08.062>
3. Koli P., Singh B.B., Shakil N.A., Kumar J., Kamil D.: Development of controlled release nanoformulations of carbendazim employing amphiphilic polymers and their bioefficacy evaluation against *Rhizoctonia solani*. *J. Environ. Sci. Health B* 2015;50(9):674–681, <https://doi.org/10.1080/03601234.2015.1038961>
4. Taborga L., Díaz K., Olea A.F., Reyes-Bravo P., Flores M.E., Peña-Cortés H. i wsp.: Effect of polymer micelles on antifungal activity of geranylrocinol compounds against *Botrytis cinerea*. *J. Agric. Food Chem.* 2015;63(31):6890–6896, <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01920>
5. De Oliveira J.L., Campos E.V., Gonçalves da Silva C.M., Pasquoto T., Lima R., Fraceto L.F.: Solid lipid nanoparticles co-loaded with simazine and atrazine: Preparation, characterization, and evaluation of herbicidal activity. *J. Agric. Food Chem.* 2015;63(2):422–432, <https://doi.org/10.1021/jf5059045>
6. Wang Y., Cui H., Sun C., Zhao X., Cui B.: Construction and evaluation of controlled-release delivery system of Abamectin using porous silica nanoparticles as carriers. *Nanoscale Res. Lett.* 2014;9(1):2490, <https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-655>

7. Chevillard A., Angellier-Coussy H., Guillard V., Bertrand C., Gontard N., Gastaldi E.: Biodegradable herbicide delivery systems with slow diffusion in soil and UV protection properties. *Pest Manag. Sci.* 2014;70(11):1697–1705, <https://doi.org/10.1002/ps.3705>
8. Zhang X., Liu J., Hou W., Tong J., Ren L., Sun G. i wsp.: Preparation and properties of pesticide/cyclodextrin complex intercalated into znal-layered double hydroxide. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2016;55(6):1550–1558, <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b04001>
9. Sarlak N., Taherifar A., Salehi F.: Synthesis of nanopesticides by encapsulating pesticide nanoparticles using functionalized carbon nanotubes and application of new nanocomposite for plant disease treatment. *J. Agric. Food Chem.* 2014;62(21):4833–4838, <https://doi.org/10.1021/jf404720d>
10. Elbeshehy E.K.F., Elazzazy A.M., Aggelis G.: Silver nanoparticles synthesis mediated by new isolates of *Bacillus* spp., nanoparticle characterization and their activity against Bean Yellow Mosaic Virus and human pathogens. *Front. Microbiol.* 2015;6:453, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00453>
11. Ouda S.M.: Antifungal activity of silver and copper nanoparticles on two plant pathogens, *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea*. *Int. J. Microbiol. Res.* 2014;9:34–42, <https://doi.org/10.3923/jm.2014.34.42>
12. Elgorban A.M., El-Samawaty A.M., Yassin M.A., Sayed S.R., Adil S.F., Elhindi K.M. i wsp.: Antifungal silver nanoparticles: Synthesis, characterization and biological evaluation, *Biotechnol. Equip.* 2016;30(1):56–62, <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1106339>
13. Mondal K.K., Mani C.: Investigation of the antibacterial properties of nanocopper against *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae*, the incitant of pomegranate bacterial blight. *Ann. Microbiol.* 2012;62(2):889–893, <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0382-7>
14. Norman D.J., Chen J.: Effect of foliar application of titanium dioxide on bacterial blight of geranium and *Xanthomonas* leaf spot of poinsettia. *HortScience* 2011;46(3):426–428
15. Navale G.R., Thripuranthaka M., Late D.J., Shinde S.S.: Antimicrobial activity of ZnO nanoparticles against pathogenic bacteria and fungi. *JSM Nanotechnol. Nanomed.* 2015;3(1):1033
16. El-Bendary H.M., El-Helaly A.A.: First record nanotechnology in agricultural: Silica nanoparticles a potential new insecticide for pest control. *App. Sci. Report* 2013;4(3): 241–246
17. Rouhani M., Samih M.A., Kalantari S.: Insecticidal effect of silica and silver nanoparticles on the cowpea seed beetle, *Callosobruchus maculatus* F. (Col.: Bruchidea). *J. Entomol. Res.* 2012;4(4):297–305
18. Stadler T., Buteler M., Weaver D.K.: Novel use of nanostructured alumina as an insecticide. *Pest Manag. Sci.* 2010;66(6):577–579, <https://doi.org/10.1002/ps.1915>
19. Powles S.B., Yu Q.: Evolution in action: Plants resistant to herbicides. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 2010;61:317–347, <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112119>
20. Kocaman A.Y., Topaktaş M.: Genotoxic effects of a particular mixture of acetamiprid and alpha-cypermethrin on chromosome aberration, sister chromatid exchange, and micronucleus formation in human peripheral blood lymphocytes. *Environ. Toxicol.* 2010;25(2):157–168, <https://doi.org/10.1002/tox.20485>
21. Kah M.: Nanopesticides and nanofertilizers: Emerging contaminants or opportunities for risk mitigation? *Front. Chem.* 2015;3:64, <https://doi.org/10.3389/fchem.2015.00064>
22. Foldbjerg R., Dang D.A., Autrup H.: Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549. *Arch. Toxicol.* 2011;85(7):743–750, <https://doi.org/10.1007/s00204-010-0545-5>
23. Meena R., Rani M., Pal R., Rajamani P.: Nano-TiO₂-induced apoptosis by oxidative stress-mediated DNA damage and activation of p53 in human embryonic kidney cells. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2012;167(4):791–808, <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9699-3>
24. Akhtar M.J., Ahamed M., Kumar S., Khan M.M., Ahmad J., Alrokayan S.A.: Zinc oxide nanoparticles selectively induce apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species. *Int. J. Nanomedicine* 2012;7:845–857, <https://doi.org/10.2147/IJN.S29129>
25. Wang Z., Li N., Zhao J., White J.C., Qu P., Xing B.: CuO nanoparticle interaction with human epithelial cells: Cellular uptake, location, export, and genotoxicity. *Chem. Res. Toxicol.* 2012;25(7):1512–1521, <https://doi.org/10.1021/tx3002093>
26. Kimura E., Kawano Y., Todo H., Ikarashi Y., Sugibayashi K.: Measurement of skin permeation/penetration of nanoparticles for their safety evaluation. *Biol. Pharm. Bull.* 2012;35(9):1476–1486
27. Prow T.W., Grice J.E., Lin L.L., Faye R., Butler M., Becker W. i wsp.: Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2011;63(6):470–491, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.01.012>
28. Wu J., Liu W., Xue C., Zhou S., Lan F., Bi L. i wsp.: Toxicity and penetration of TiO₂ nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure. *Toxicol. Lett.* 2009;191(1):1–8, <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.05.020>
29. Hoefler D., Hammer T.R.: Antimicrobial active clothes display no adverse effects on the ecological balance of

- the healthy human skin microflora. *ISRN Dermatol.* 2011;2011:369603, <https://doi.org/10.5402/2011/369603>
30. Ye M., Beach J., Martin J.W., Senthilselvan A.: Occupational pesticide exposures and respiratory health. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2013;10(12):6442–6471, <https://doi.org/10.3390/ijerph10126442>
31. Vietti G., Lison D., van den Brule S.: Mechanisms of lung fibrosis induced by carbon nanotubes: Towards an Adverse Outcome Pathway (AOP). *Part. Fibre Toxicol.* 2016;13(1):11, <https://doi.org/10.1186/s12989-016-0123-y>
32. Horie M., Fukui H., Endoh S., Maru J., Miyauchi A., Shichiri M. i wsp.: Comparison of acute oxidative stress on rat lung induced by nano and fine-scale, soluble and insoluble metal oxide particles: NiO and TiO₂. *Inhal. Toxicol.* 2012;24(7):391–400, <https://doi.org/10.3109/08958378.2012.682321>
33. Sung J.H., Ji J.H., Park J.D., Yoon J.U., Kim D.S., Jeon K.S. i wsp.: Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles. *Toxicol. Sci.* 2009;108(2):452–461, <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn246>
34. Sung J.H., Ji J.H., Park J.D., Song M.Y., Song K.S., Ryu H.R. i wsp.: Subchronic inhalation toxicity of gold nanoparticles. *Part. Fibre Toxicol.* 2011;8:16, <https://doi.org/10.1186/1743-8977-8-16>
35. Wang J., Liu Y., Jiao F., Lao F., Li W., Gu Y. i wsp.: Time-dependent translocation and potential impairment on central nervous system by intranasally instilled TiO₂ nanoparticles. *Toxicology* 2008;254(1–2):82–90, <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.09.014>
36. Sharma H.S., Hussain S., Schlager J., Ali S.F., Sharma A.: Influence of nanoparticles on blood-brain barrier permeability and brain edema formation in rats. *Acta Neurochir. Suppl.* 2010;106:359–364, https://doi.org/10.1007/978-3-211-98811-4_65
37. Loeschner K., Hadrup N., Qvortrup K., Larsen A., Gao X., Vogel U. i wsp.: Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. *Part. Fibre Toxicol.* 2011;8:18, <https://doi.org/10.1186/1743-8977-8-18>
38. Kim W.Y., Kim J., Park J.D., Ryu H.Y., Yu I.J.: Histological study of gender differences in accumulation of silver nanoparticles in kidneys of Fischer 344 rats. *J. Toxicol. Environ. Health A* 2009;72(21–22):1279–1284, <https://doi.org/10.1080/15287390903212287>
39. Lee J.H., Kim Y.S., Song K.S., Ryu H.R., Sung J.H., Park J.D. i wsp.: Biopersistence of silver nanoparticles in tissues from Sprague-Dawley rats. *Part. Fibre Toxicol.* 2013;10:36, <https://doi.org/10.1186/1743-8977-10-36>
40. Park K.: Toxicokinetic differences and toxicities of silver nanoparticles and silver ions in rats after single oral administration. *J. Toxicol. Environ. Health A* 2013;76(22):1246–1260, <https://doi.org/10.1080/15287394.2013.849635>
41. Qin G., Tang S., Li S., Lu H., Wang Y., Zhao P. i wsp.: Toxicological evaluation of silver nanoparticles and silver nitrate in rats following 28 days of repeated oral exposure. *Environ. Toxicol.* 2016;32(2):609–618, <https://doi.org/10.1002/tox.22263>
42. Mehrpour O., Karrari P., Zamani N., Tsatsakis A.M., Abdollahi M.: Occupational exposure to pesticides and consequences on male semen and fertility: A review. *Toxicol. Lett.* 2014;230(2):146–156, <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.01.029>
43. Hanke W., Jurewicz J.: The risk of adverse reproductive and developmental disorders due to occupational pesticide exposure: An overview of current epidemiological evidence. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 2004;17(2):223–243
44. Vinson F., Merhi M., Baldi I., Raynal H., Gamet-Payras L.: Exposure to pesticides and risk of childhood cancer: A meta-analysis of recent epidemiological studies. *Occup. Environ. Med.* 2011;68:694–702, <https://doi.org/10.1136/oemed-2011-100082>
45. Burns C.J., McIntosh L.J., Mink P.J., Jurek A.M., Li A.A.: Pesticide exposure and neurodevelopmental outcomes: Review of the epidemiologic and animal studies. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 2013;16(3–4):127–283, <https://doi.org/10.1080/10937404.2013.783383>
46. Castellini C., Ruggeri S., Mattioli S., Bernardini G., Macchioni L., Moretti E. i wsp.: Long-term effects of silver nanoparticles on reproductive activity of rabbit buck. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 2014;60(3):143–150, <https://doi.org/10.3109/19396368.2014.891163>
47. Yoisungnern T., Choi Y.J., Han J.W., Kang M.H., Das J., Gurunathan S. i wsp.: Internalization of silver nanoparticles into mouse spermatozoa results in poor fertilization and compromised embryo development. *Sci. Rep.* 2015;5:11170, <https://doi.org/10.1038/srep11170>
48. Lafuente D., Garcia T., Blanco J., Sánchez D.J., Sirvent J.J., Domingo J.L. i wsp.: Effects of oral exposure to silver nanoparticles on the sperm of rats. *Reprod. Toxicol.* 2016;60:133–139, <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.02.007>
49. Gromadzka-Ostrowska J., Dziendzikowska K., Lankoff A., Dobrzyńska M., Instanes C., Brunborg G. i wsp.: Silver nanoparticles effects on epididymal sperm in rats. *Toxicol. Lett.* 2012;214(3):251–258, <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.08.028>
50. Mielnik E.A., Buzulukov Y.P., Demin V.F., Demin V.A., Gmshinski I.V., Tyshko N.V. i wsp.: Transfer of silver nanoparticles through the placenta and breast milk during *in vivo* experiments on rats. *Acta Naturae* 2013;5(3):107–115

51. Semmler-Behnke M., Lipka J., Wenk A., Hirn S., Schäfler M., Tian F. i wsp.: Size dependent translocation and fetal accumulation of gold nanoparticles from maternal blood in the rat. *Part. Fibre Toxicol.* 2014;11:33, <https://doi.org/10.1186/s12989-014-0033-9>
52. Poulsen M.S., Mose T., Maroun L.L., Mathiesen L., Knudsen L.E., Rytting E.: Kinetics of silica nanoparticles in the human placenta. *Nanotoxicology* 2015;9(1):79–86, <https://doi.org/10.3109/17435390.2013.812259>
53. Löndahl J., Möller W., Pagels J.H., Kreyling W.G., Swietlicki E., Schmid O.: Measurement techniques for respiratory tract deposition of airborne nanoparticles: A critical review. *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* 2014;27(4):229–254, <https://doi.org/10.1089/jamp.2013.1044>
54. Neubauer N., Seipenbusch M., Kasper G.: Functionality based detection of airborne engineered nanoparticles in quasi real time: A new type of detector and a new metric. *Ann. Occup. Hyg.* 2013;57(7):842–852, <https://doi.org/10.1093/annhyg/met007>
55. Kapka-Skrzypczak L., Sawicki K., Czajka M., Turski W.A., Kruszewski M.: Cholinesterase activity in blood and pesticide presence in sweat as biomarkers of children's environmental exposure to crop protection chemicals. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2015;22(3):478–482, <https://doi.org/10.5604/12321966.1167718>
56. Balasubramanian S.K., Poh K.W., Ong C.N., Kreyling W.G., Ong W.Y., Yu L.E.: The effect of primary particle size on biodistribution of inhaled gold nano-agglomerates. *Biomaterials* 2013 Jul;34(22):5439–5452, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.03.080>
57. Cho W.S., Kang B.C., Lee J.K., Jeong J., Che J.H., Seok S.H.: Comparative absorption, distribution, and excretion of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles after repeated oral administration. *Part. Fibre Toxicol.* 2013;10:9, <https://doi.org/10.1186/1743-8977-10-9>
58. Park E.J., Bae E., Yi J., Kim Y., Choi K., Lee S.H. i wsp.: Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2010;30(2):162–168, <https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.05.004>
59. Park E.J., Kim H., Kim Y., Yi J., Choi K., Park K.: Inflammatory responses may be induced by a single intratracheal instillation of iron nanoparticles in mice. *Toxicology* 2010;275(1–3):65–71, <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.06.002>
60. Reddy A.R., Rao M.V., Krishna D.R., Himabindu V., Reddy Y.N.: Evaluation of oxidative stress and anti-oxidant status in rat serum following exposure of carbon nanotubes. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2011;59(2):251–257, <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.10.007>
61. Song M.F., Li Y.S., Kasai H., Kawai K.: Metal nanoparticle-induced micronuclei and oxidative DNA damage in mice. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2012;50(3):211–216, <https://doi.org/10.3164/jcfn.11-70>
62. Amenta V., Aschberger K., Arena M., Bouwmeester H., Botelho Moniz F., Brandhoff P. i wsp.: Regulatory aspects of nanotechnology in the agri/feed/food sector in EU and non-EU countries. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2015;73(1):463–476, <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.06.016>