

ZPRÁVA O VÝSLEDKÁCH PROJEKTU NOVÉ PŘÍSTUPY KE STUDIU TOXICITY OVZDUŠÍ A JEJICH PŘÍSPĚVEK KE STANOVENÍ LIMITNÍCH HODNOT VYBRANÝCH POLUTANTŮ

NÁRODNÍ PROGRAM VÝZKUMU II – PROGRAM ZDRAVÝ A KVALITNÍ ŽIVOT

(MŠMT 2B08005)

Projekt byl řešen na Ústavu experimentální medicíny AV ČR, v. v. i., a ALS Czech Republic, s. r. o., v letech 2008 až 2011. Vzhledem ke znečištění ovzduší jemnými prachovými částicemi (PM_{2.5}) a karcinogenními polycyklickými aromatickými uhlovodíky (k-PAU, představitelem je prokázaný lidský karcinogen benzo[a]pyren – B[a]P) bylo za znečištěnou oblast zvoleno Ostravsko (Moravskoslezský kraj – MSK: Ostrava, Karviná, Havířov), za kontrolní Praha a Třeboň.

Při studiu byly využity nejnovější metody molekulární epidemiologie (biomarkery: stanovení DNA aduktů, chromozomových aberací, mikrojadérek, oxidačního poškození DNA, lipidů a proteinů, exprese genů). Při stanovení exprese genů byla použita čipová technologie, která umožnila analyzovat změny genů na úrovni celého lidského genomu. Z hlediska spektra použitých metod se jedná o prioritní přístup hodnocení genetického poškození znečištěným ovzduším. Patrně díky vysokým koncentracím B[a]P na Ostravsku, které jsou nejvyšší v EU, jsou získané výsledky celosvětově unikátní.

Genotoxicita jemných prachových částic byla hodnocena v pokusech *in vitro*. Byl prokázán vztah mezi koncentrací k-PAU a B[a]P vázaných na povrchu PM_{2.5} a genetickým poškozením. Vysoké koncentrace k-PAU ve srovnání s jinými lokalitami v ČR (Praha, Třeboň, Teplice) jsou výsledkem znečištění ovzduší těžkým průmyslem (jediný rozdíl, kterým se liší MSK od ostatních částí ČR). Analýzou celogenomové exprese byly identifikovány geny a biologické dráhy deregulované ve všech lokalitách a specifické pro dané lokality (např. zvýšení exprese genů ovlivňujících metabolismus chemických látek).

Molekulárně-epidemiologická studie byla prováděna v zimě a létě 2009 a zimě 2010 na dobrovolnících v Ostravě, Karvině, Havířově, Ostravě-Bartovicích a Praze. Bylo studováno ovlivnění biomarkerů vlivem k-PAU a volatilních organických látek (VOC, benzen). Vzhledem k inverzi v lednu 2010 byly koncentrace B[a]P na Ostravsku, stanovené osobními dozimetry, 14,6 ng/m³, benzenu 8,5–17,9 µg/m³ (koncentrace PM_{2.5}, stanovené stacionárními monitory, dosahovaly v Ostravě-Bartovicích 400 µg/m³, B[a]P 90 ng/m³). Získané výsledky byly překvapující: vysoká environmentální expozice B[a]P neindukuje u chronicky zatížené populace poškození DNA dle předpokládaného vztahu dávky a účinku. Vliv vysoké expozice B[a]P byl pozorován pouze u jedinců z nezatížené lokality, kteří byli ve znečištěné oblasti (Ostravsko) 3 týdny (frekvence chromozomových aberací byla zvýšena o více než 50 %, což je

považováno za významné poškození genomu). Tento výsledek naznačuje možnou adaptivní odpověď na ovzduší znečištěné k-PAU u chronicky zatížené populace. Proto byly následně studovány geny ovlivňující reparaci genetického poškození. U osob v Ostravě byla pozorována zvýšená exprese genu XRCC5, který vyhledává a podílí se na opravě zlomů DNA. Analýzou celogenomové exprese bylo zjištěno 1184 transkriptů jedinečných pro Ostravu a 2133 transkriptů jedinečných pro Prahu. Rozdílná exprese genů u dobrovolníků v Ostravě a Praze naznačuje rozdílné spektrum znečišťujících látek s biologickým účinkem.

Při řešení projektu byly získány nové poznatky, které jsou využitelné pro hodnocení zdravotních rizik expozice k-PAU a benzenu:

1. Stanovení DNA aduktů v pokusech *in vitro* umožňuje určit genotoxicitu organických látek vázaných na respirabilní prachové částice.

2. Bylo prokázáno, že koncentrace B[a]P vyšší než 1 ng/m³ zvyšuje peroxidaci lipidů (což je indikátor urychlení procesu stárnutí a zvýšeného rizika kardiovaskulární nemoci).

3. Byla prokázána indukce reparačního genu XRCC5 a vliv vitaminů C a E na možnou adaptivní odpověď na ovzduší znečištěné k-PAU u chronicky zatížené populace.

4. Jako reakce na ovzduší dlouhodobě znečištěné k-PAU jsou u obyvatel Ostravy deregulovány specifické geny, které přispívají ke snížení negativního dopadu znečištění na genetický materiál (adaptivní odpověď).

Prioritním výsledkem výzkumu je poznatek, že lidský organismus je schopen reagovat na velmi vysoké koncentrace k-PAU a dalších škodlivých látek v prostředí adaptivní odpovědí, která je však z dlouhodobého hlediska pro organismus škodlivá. Její negativní důsledky se projevují zejména zkrácením průměrné délky života u zatížené populace.

Proto je opodstatněný požadavek analyzovat vliv znečištěného ovzduší na indukci deregulace genů u novorozenců a studovat, jak ovlivňují nemocnost dětí.

Získané výsledky současně prokazují, jak nové metody molekulární biologie umožňují získat zcela nové a nepředpokládané výsledky, které jsou využitelné pro zpřesnění hodnocení zdravotních rizik populace.

MUDr. Radim Šrám, Dr.Sc.
E-mail: sram@biomed.cas.cz