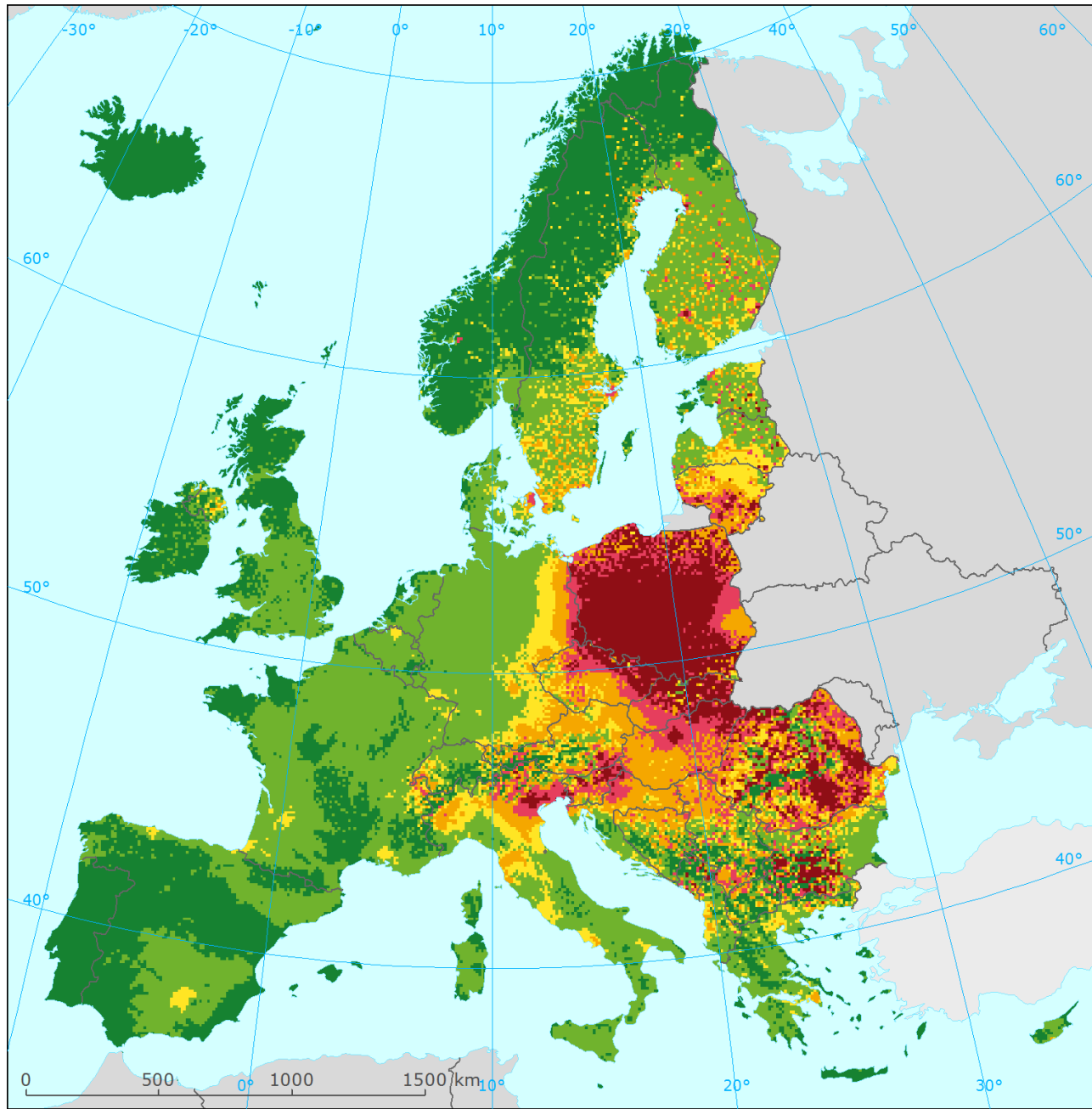


Vliv znečištěného ovzduší na zdravotní stav populace

Radim J. Šrám,
Ústav experimentální mediciny AV ČR
sram@biomed.cas.cz



FHS UK, Praha, 5. 3. 2018



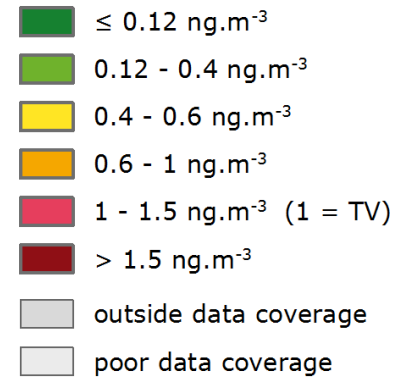
Benzo(a)pyrene Annual Average

Reference Year: 2012

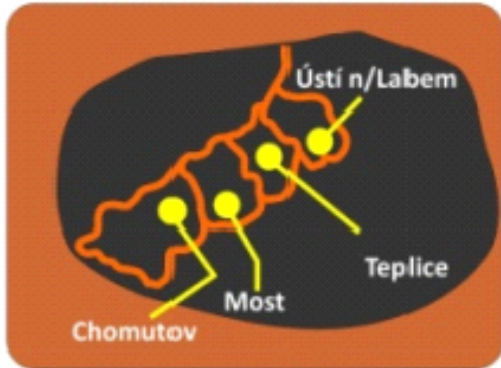
Population Weighted Concentration Map

Model Used in Mapping: EMEP

Resolution: 10x10 km

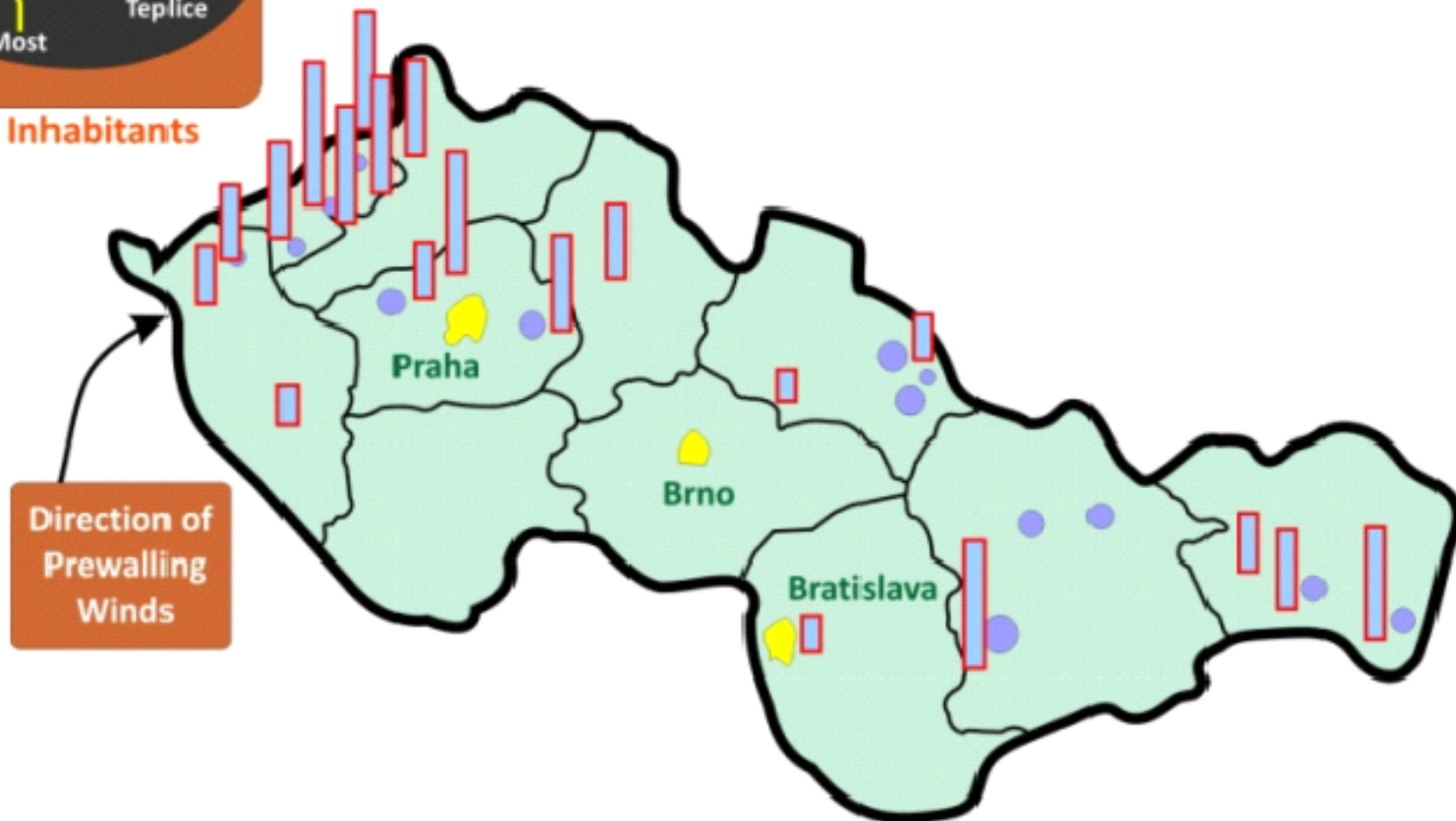


Mining Districts



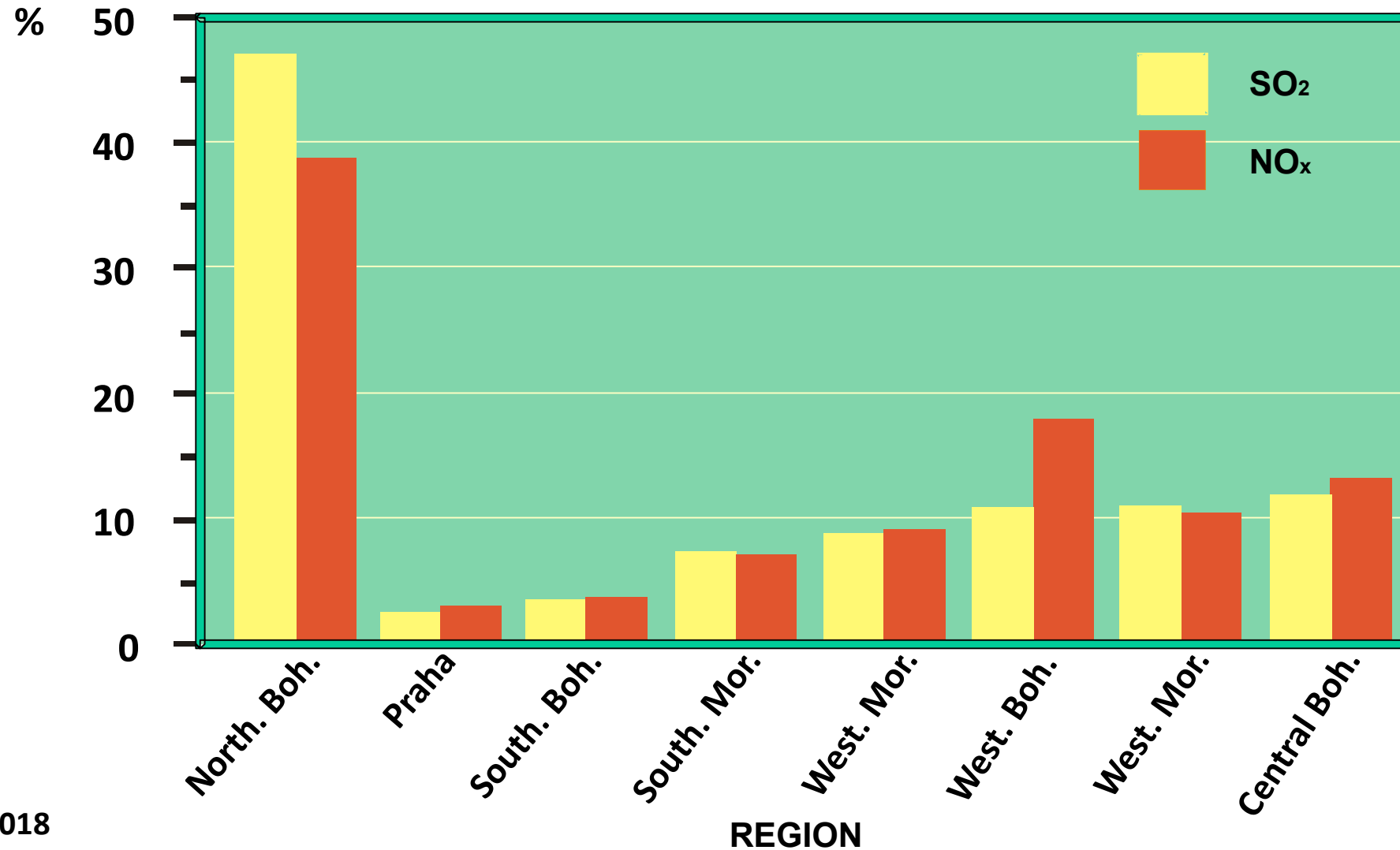
498,000 Inhabitants

DISTRIBUTION OF THE MAIN EMISSION CENTRES IN CZECHOSLOVAKIA

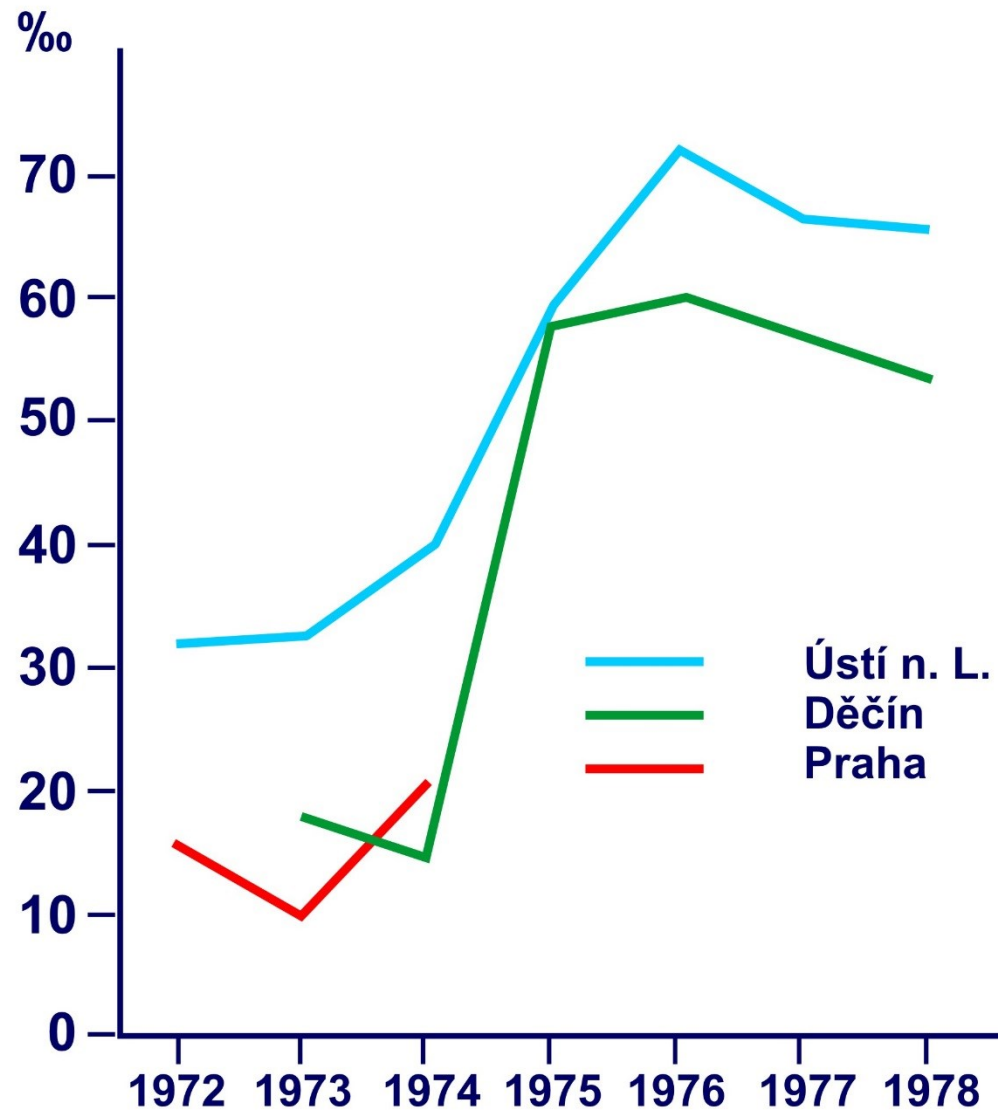


RATIO OF ABSOLUTE EMISSION

CZECH REPUBLIC 1988



Incidence VVV (vrozených vývojových vad)



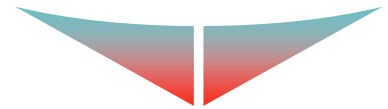
NEMOCNOST DĚTÍ V PÁNEVNÍCH OKRESECH SEVEROČESKÉHO KRAJE

Onemocnění	Nemocnost dětí Počet onemocnění/100	
	ČR	Pánevnické okresy
Močové cesty - ledviny	0.89	1.12
Dýchací soustava	0.54	2.90
Alergie	1.70	2.93
Duševní poruchy	0.53	1.06
Kůže	0.65	1.29
	(0-6 let)	
Močové cesty - ledviny	1.42	1.68
Dýchací soustava	0.45	1.40
Duševní poruchy	2.00	4.09
Endokrinní	1.17	1.54
Kůže	0.73	1.09
Ostatní chronická onemocnění	0.92	1.79
	(7-15 let)	

TEPLICE PROGRAM

IMPACT OF AIR POLLUTION ON HUMAN HEALTH

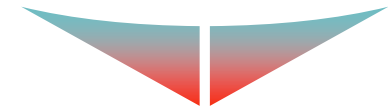
Model district



TEPLICE

(coal power plant
open pit mines
industry)

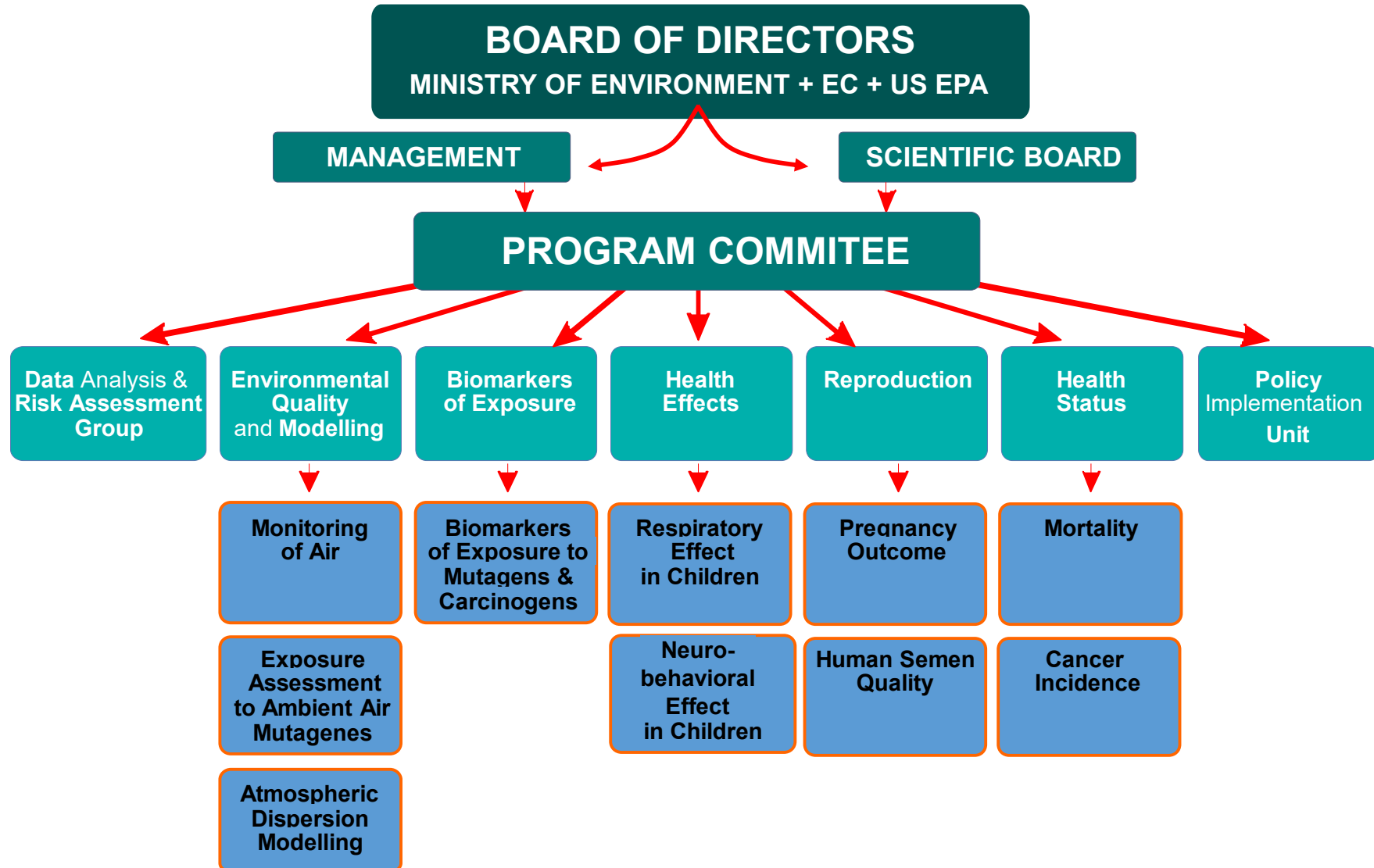
Control district

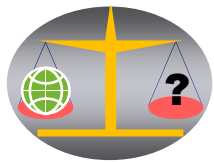


PRACHATICE

(agricultural
area)

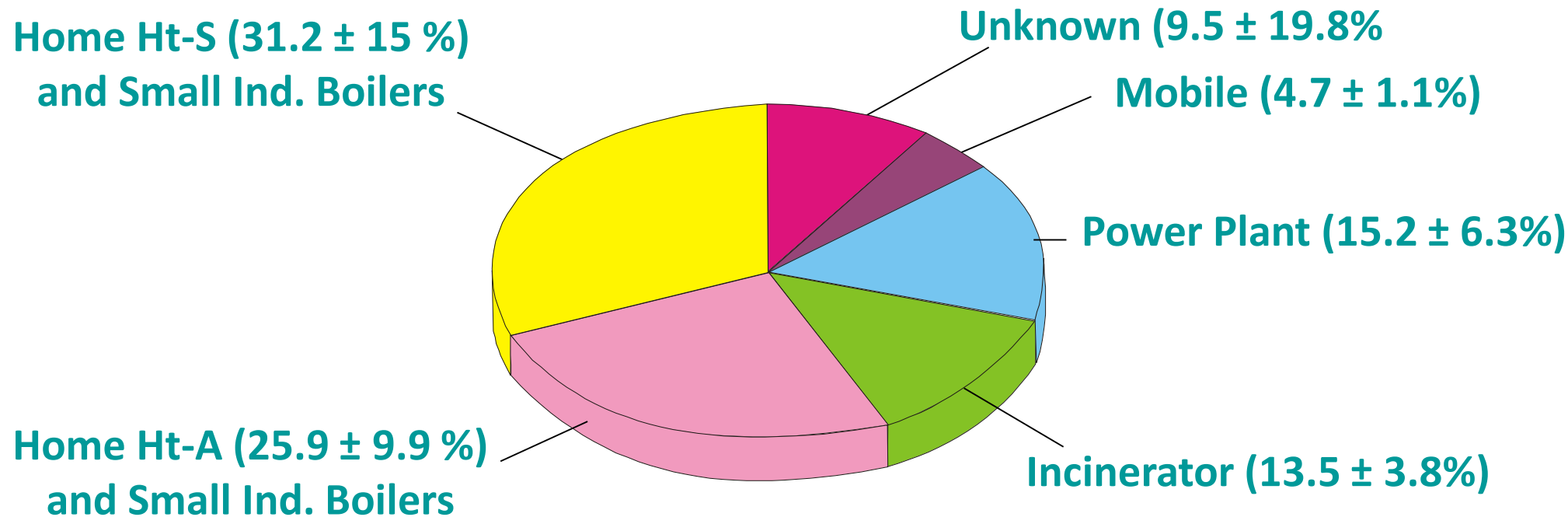
TEPLICE PROGRAM





APPORTIONMENT OF TEPLICE FINE MASS

January – February, 1994



Average Fine Mass Concentration = $52.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$

CONTRIBUTION OF THE MAJOR PAH-DNA ADDUCTS TO THE TOTAL DNA ADDUCTS LEVEL FROM URBAN SAMPLES

(Binková et al. 1999)

PAH-DNA
adducts
derived
from



9-OH-B[a]P

anti - BPDE

B[b]F

B[k]F

B[j]F

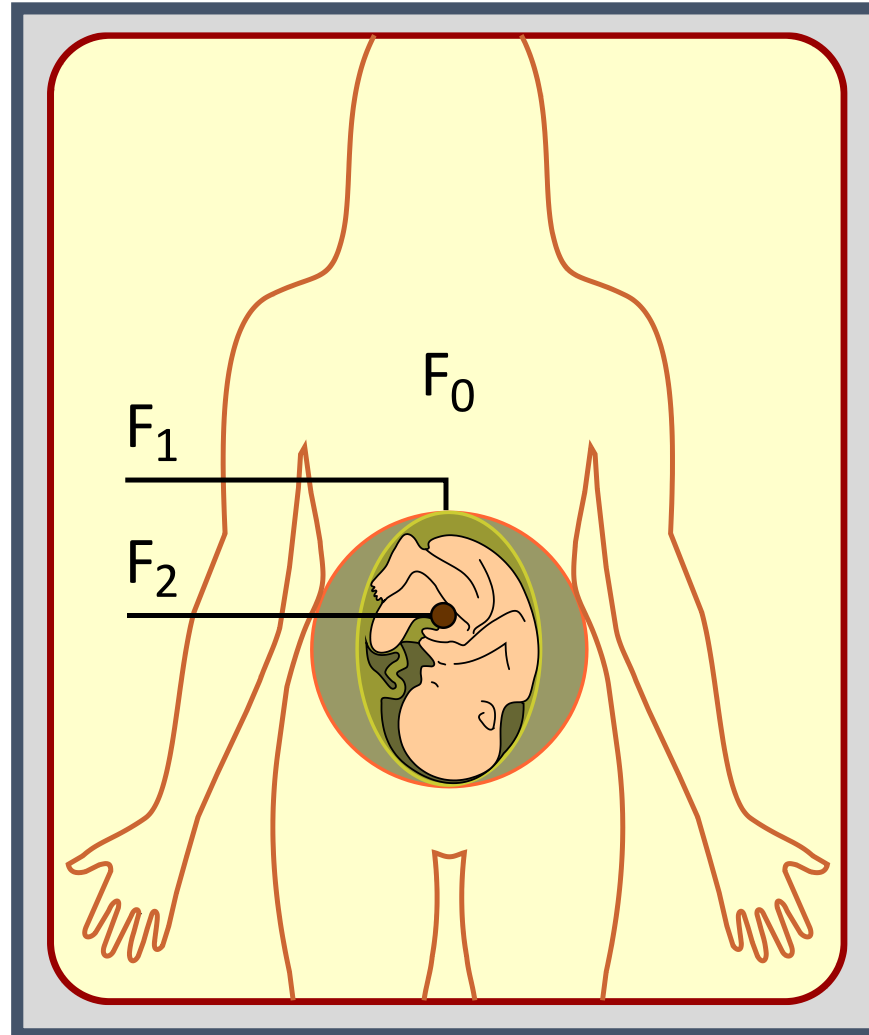
CHRY

B[a]A

I[c,d]P

Total radioactivity from all DNA adducts detected approx. 50 %

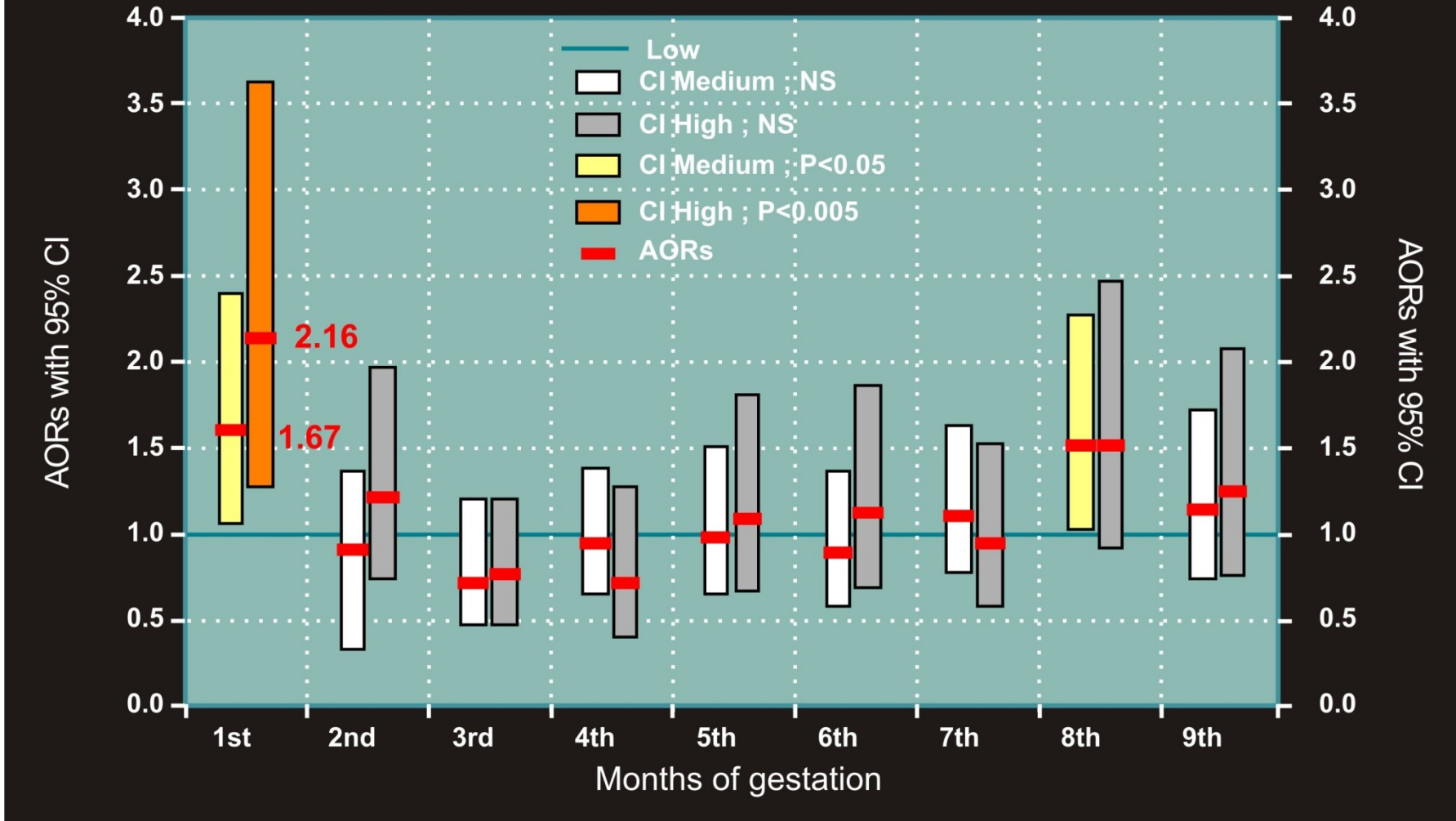




INCIDENCE DĚTÍ S PORODNÍ HMOTNOSTÍ < 2.500 g

Rok	Teplice		Ústí n. L.		Jablonec	
	N	%	N	%	N	%
1982	1546	8.3	1591	8.1	1102	5.5
1983	1511	8.3	1551	8.4	1061	6.5
1984	1374	9.2	1460	7.7	1063	4.3
1985	1351	7.9	1510	7.5	-	-
1986	1408	6.5	1532	8.7	-	-

CARCINOGENIC PAHs & IUGR IN TEPLICE



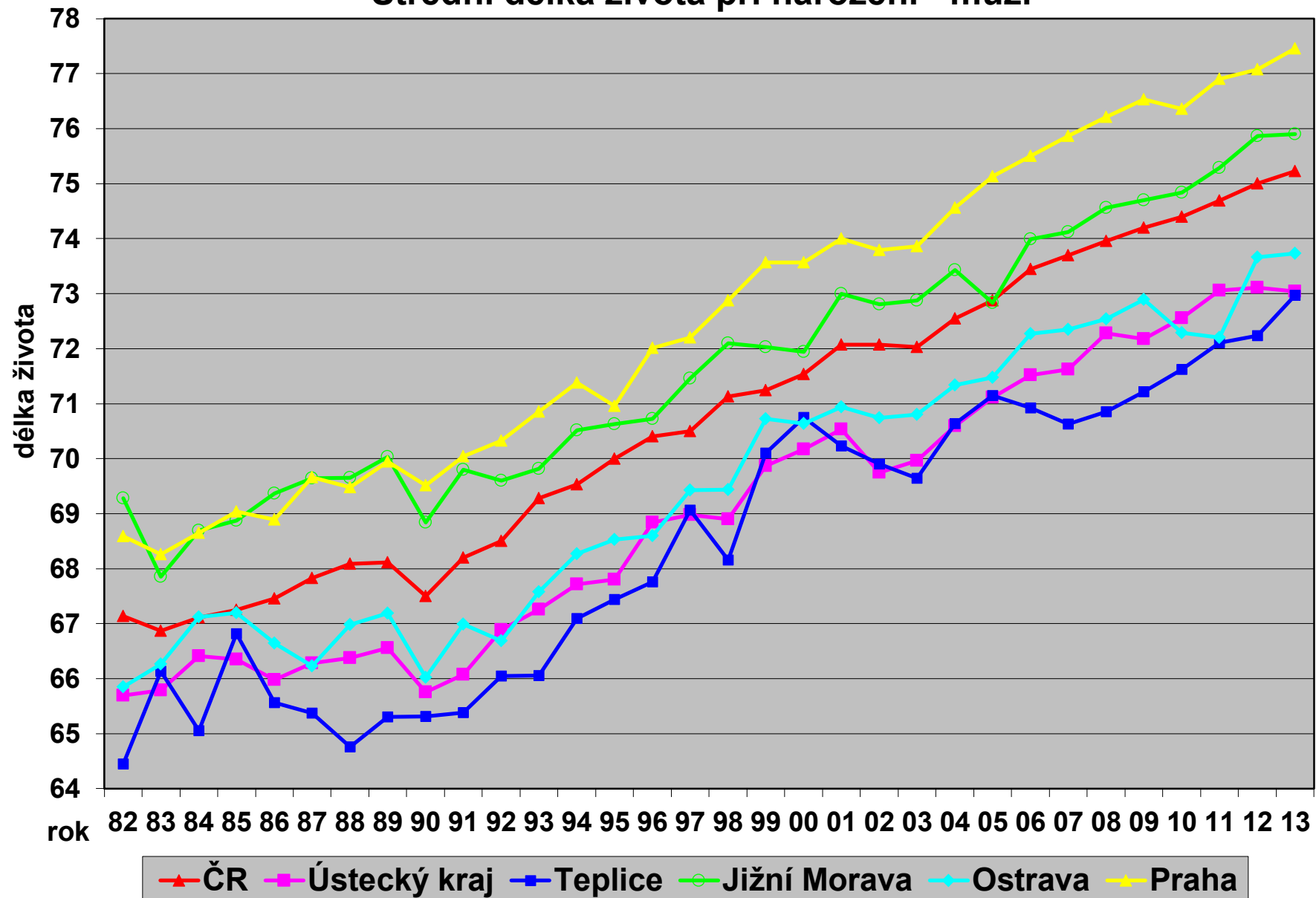
DŮSLEDKY IUGR

- ▶ Dětská úmrtnost
- ▶ Dětská nemocnost
- ▶ Zpoždění vývoje
- ▶ Cukrovka
- ▶ Hypertenze
- ▶ Ischemická choroba srdeční

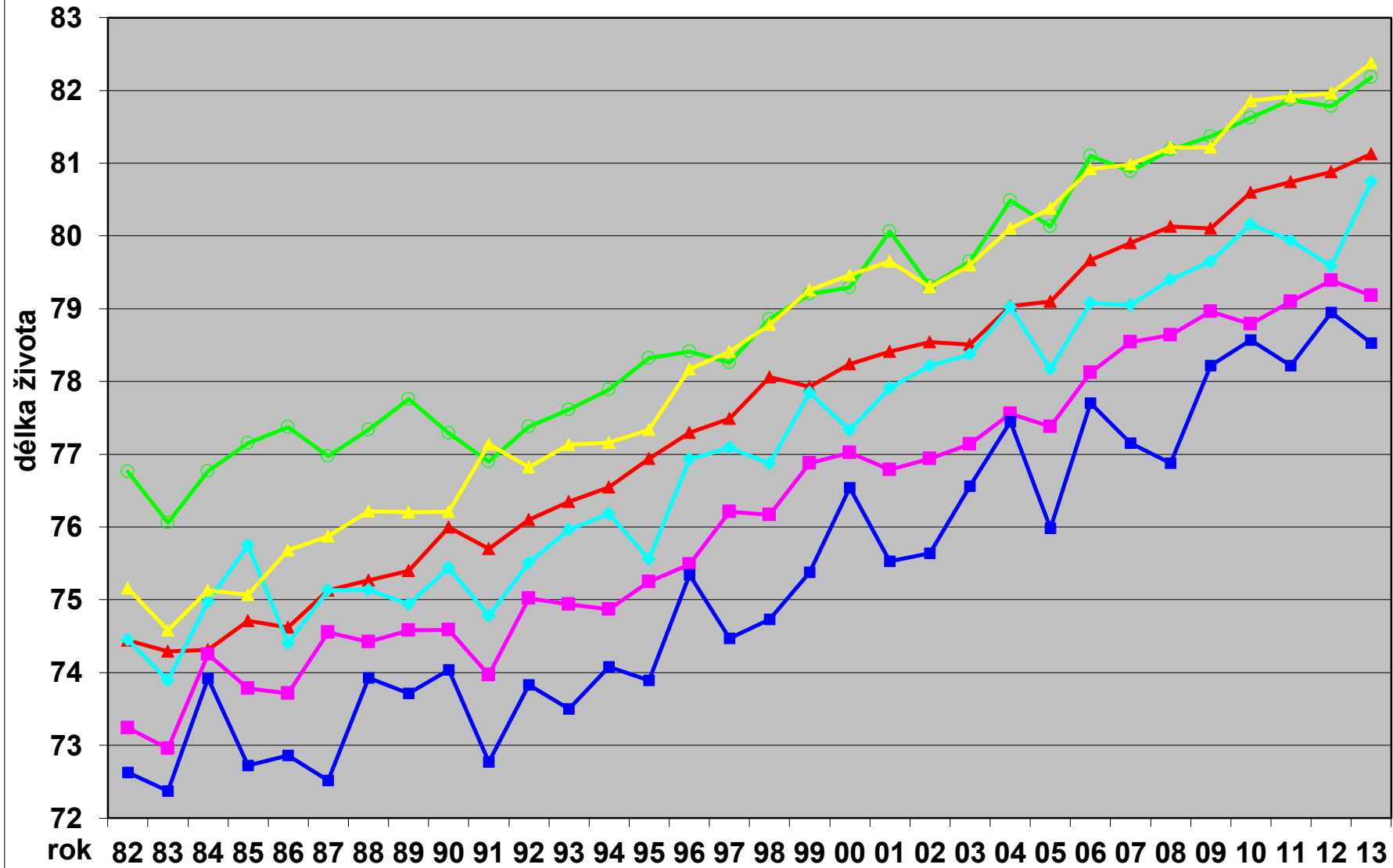
VÝZNAM k-PAU VE ZNEČIŠTĚNÉM OVZDUŠÍ



Střední délka života při narození - muži



Střední délka života při narození - ženy






—▲— ČR —■— Ústecký kraj —■— Teplice —○— Jižní Morava —▲— Ostrava —▲— Praha

DŮSLEDKY ZNEČIŠTĚNÍ OVZDUŠÍ PRO POPULACI PÁNEVNÍCH OKRESŮ

- 1) Trvale snížená střední délka života mužů i žen**
- 2) Trvale zvýšená úmrtnost na srdečně-cévní onemocnění**
- 3) U dětí narozených v sedmdesátých a osmdesátých letech je nutné očekávat v dospělosti zvýšený výskyt:
hypertenze, ischemické choroby srdeční, diabetu 2. stupně,
ovlivnění kvality spermií**
- 4) Poškození genetického materiálu (DNA) bude nepříznivě
ovlivňovat i příští generace**

Air particles deposition in the airways



-  $> 10 \mu\text{m}$
-  $< 10 \mu\text{m}$ (PM10)
-  $< 2.5 \mu\text{m}$ (PM2.5)

PM2.5

17. ZASEDÁNÍ WHO

Květen 2014

- 1) Expozice znečištěného ovzduší
v Evropě 2012 – 600 000 úmrtí
- 2) Znečištěné ovzduší + prachové částice
prokázaný lidský karcinogen (X/2013)
(15 % všech karcinomů plic)

WHO doporučuje standard pro PM2.5 < 10 µg/m³

PM 2.5

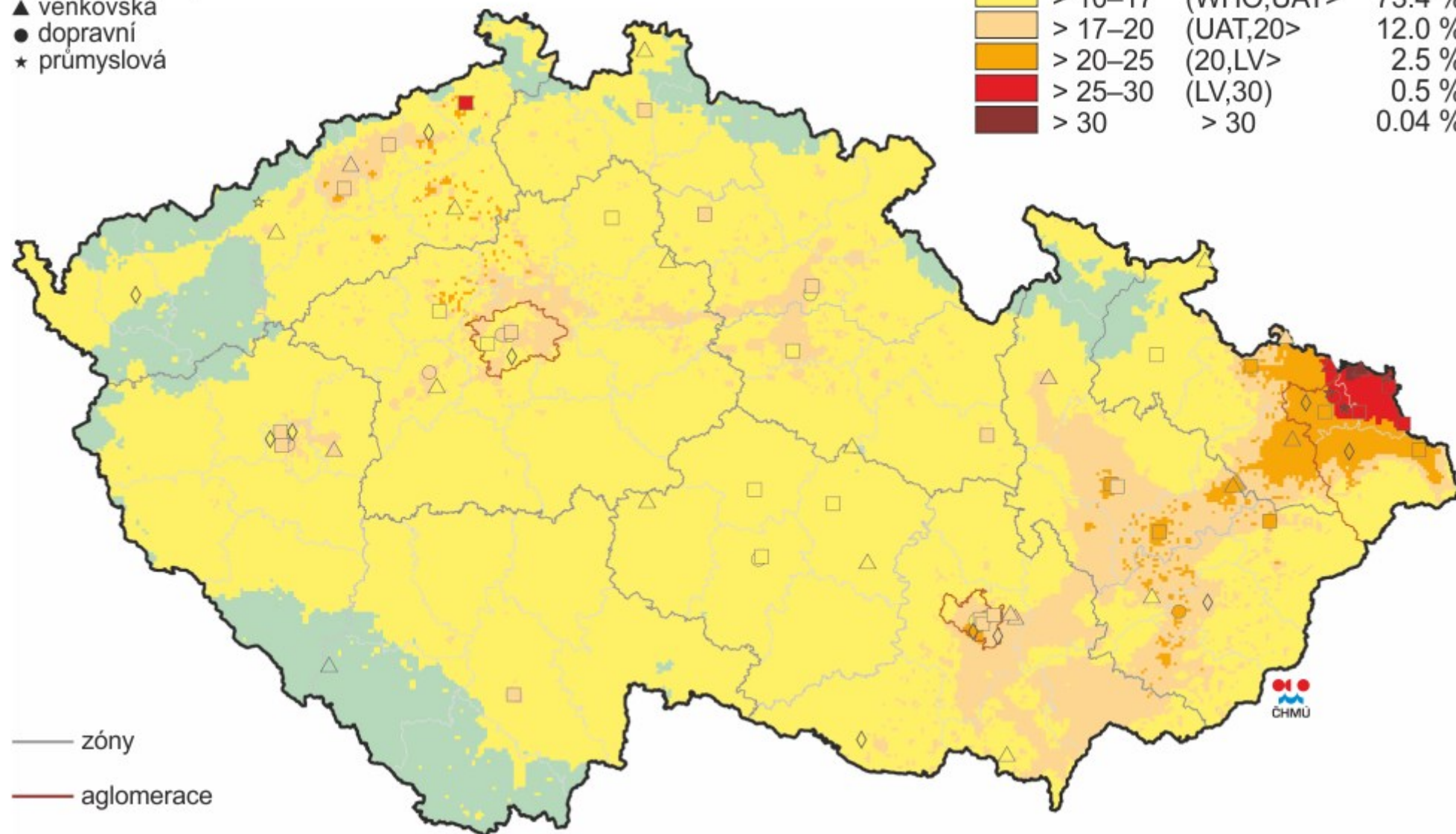
→	EU	25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
→	USA	12 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
→	WHO	10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

klasifikace stanic

- městská pozadová
- ◆ předměstská pozadová
- ▲ venkovská
- dopravní
- ★ průmyslová

koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$]

≤ 10	≤ WHO	11.6 %
> 10–17	(WHO,UAT>	73.4 %
> 17–20	(UAT,20>	12.0 %
> 20–25	(20,LV>	2.5 %
> 25–30	(LV,30)	0.5 %
> 30	> 30	0.04 %



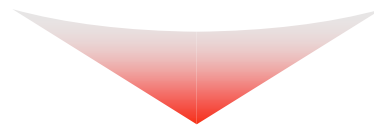
Obr. IV.1.4 Pole roční průměrné koncentrace $\text{PM}_{2,5}$, 2016

STŘEDNÍ DÉLKA ŽIVOTA A ZNEČIŠTĚNÍ OVZDUŠÍ V USA

545 Counties

	2000	2007
	76.7 ± 1.7	77.5 ± 2.0
PM2.5	13.2 ± 3.4	11.6 ± 2.8

Snížení koncentrace PM2.5 o 1.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ →



prodloužení střední délky života o 0.8 roku

(Correi A. et al., *Epidemiology* 24:23-31, 2013)

B[a]P

B[a]P

C.B.B. Guerreiro et al. “Benzo(a)pyrene in Europe: Ambient air concentrations, population exposure and health effects”,
Environmental Pollution 214 (2016) 657-667

→ Acceptable risk level: 0.12 ng B[a]P/m³

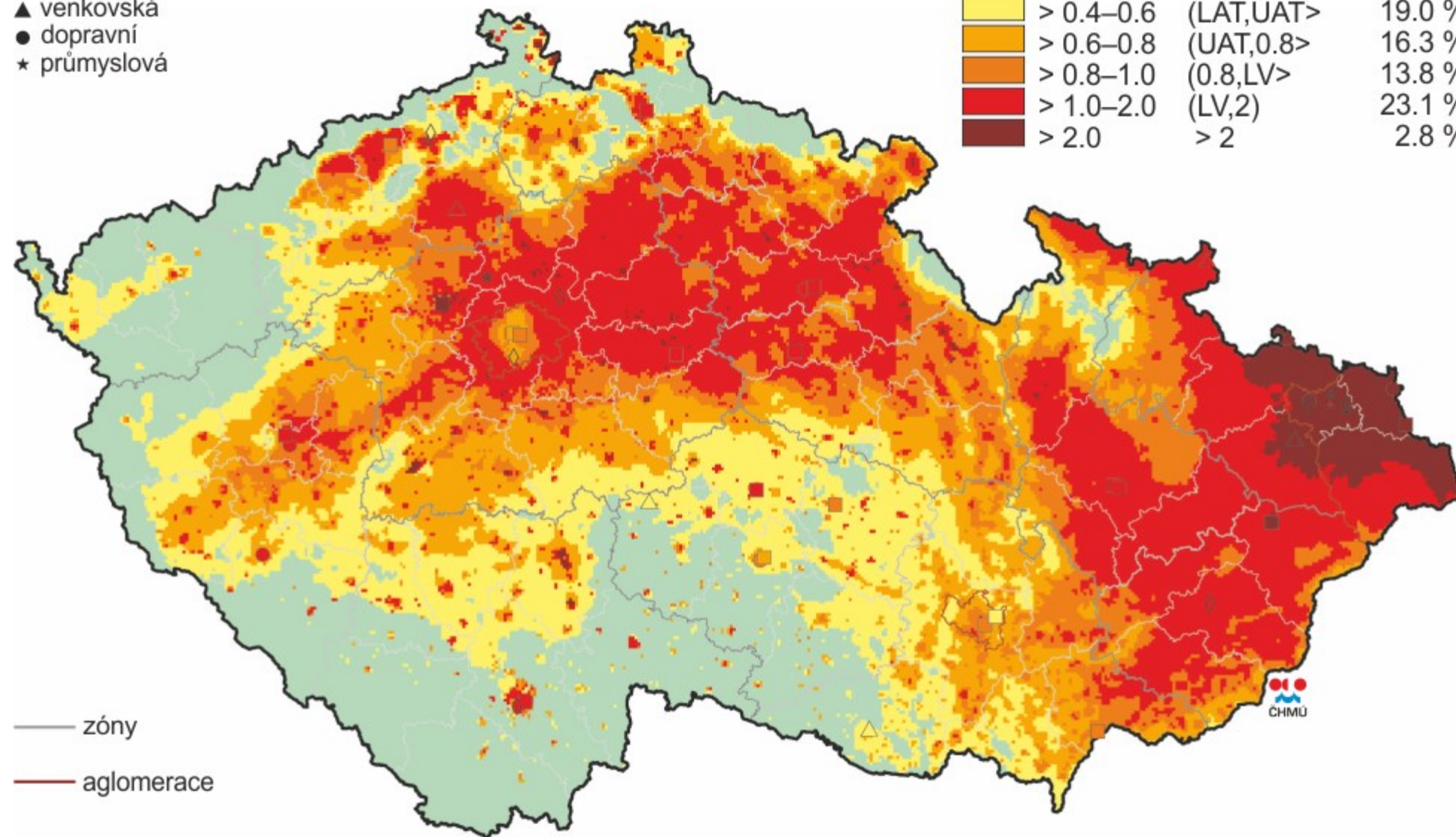
Increasing tendency in B[a]P emissions - implementation of climate mitigation policies promoting the use of biomass burning for domestic heating

klasifikace stanic

- městská pozadová
- ◆ předměstská pozadová
- ▲ venkovská
- dopravní
- ★ průmyslová

koncentrace [$\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$]

≤ 0.4	≤ LAT	25.0 %
> 0.4–0.6	(LAT,UAT>	19.0 %
> 0.6–0.8	(UAT,0.8>	16.3 %
> 0.8–1.0	(0.8,LV>	13.8 %
> 1.0–2.0	(LV,2)	23.1 %
> 2.0	> 2	2.8 %



Obr. IV.2.1 Pole roční průměrné koncentrace benzo[a]pyrenu, 2016

AIR POLLUTION 2010 – 2016

(CHMI)

Locality	PM10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	PM2.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	B[a]P ng/m^3
Ostrava-Poruba	39.9 \pm 41.4 / 27.3 \pm 23.5	32.2 \pm 37.0 / 22.2 \pm 18.3	3.8 \pm 6.2 / 2.2 \pm 0.8
Ostrava -Bartovice	61.7 \pm 45.6 / 41.0 \pm 35.1	46.7 \pm 38.2 / 35.5 \pm 29.8	7.2 \pm 8.1 / 9.0 \pm 5.3
Karvina	54.3 \pm 50.0 / 33.8 \pm 28.6	X / 27.1 \pm 21.9	6.3 \pm 8.8 / 3.4 \pm 1.6
Havirov	52.9 \pm 58.2 / 32.9 \pm 27.7	X / 25.9 \pm 21.4	X
Prague-Smichov	37.9 \pm 20.1 / 26.5 \pm 23.9	21.1 \pm 14.2 / 19.5 \pm 16.9	X
Prague -Libus	27.4 \pm 16.9 / 19.6 \pm 17.1	20.3 \pm 13.1 / 15.8 \pm 13.2	0.9 \pm 1.2 / 0.8 \pm 0.3
Ceské Budejovice	25.2 \pm 16.9 / 21.8 \pm 17.2	X / 18.5 \pm 14.8	1.5 \pm 1.8 / 1.5 \pm 0.5

VÝSLEDKY MOLEKULÁRNĚ EPIDEMIOLOGICKÝCH STUDIÍ

(genomová frekvence translokací-FISH, mikrojadérka, fragmentace DNA ve spermích)

koncentrace
> 1 ng B[a]P/m³
v ovzduší

RIZIKO PRO LIDSKÉ ZDRAVÍ

(WHO Bonn 6. 11. 2009)



**ZNEČIŠTĚNÉ
OVZDUŠÍ**

A

CNS

ZDRAVOTNÍ RIZIKA EXPOZICE Z DOPRAVY

- ↑ koncentrace NO₂
- ↑ koncentrace PM_{2.5}
- ↑ koncentrace k-PAU

ZNEČIŠTĚNÍ OVZDUŠÍ Z DOPRAVY

(Sunyer et al. 2017)

Změny pozornosti, ovlivnění neuropsychického vývoje

NO₂ 33.50 µg/m³

EC 1.13 µg/m³

NO ₂	Praha 2 Legerova	47.1±20.6 µg/m ³
	Praha 4 Libuš	18.1±7.6 µg/m ³
	Praha 5 Smíchov	41.6±17.3 µg/m ³
	Praha 10 Průmyslová	31.2±12.2 µg/m ³
	Olomouc-Hejčín	23.4±21.6 µg/m ³

Vliv zvýšených koncentrací PM2.5 v ovzduší na CNS

➔ zvyšují výskyt:

poruch kognitivních funkcí u dětí
ovlivňují koncentraci proteinu BDNF
autismu
onemocnění depresí
incidence demence
Parkinsonovy choroby

Vliv zvýšených koncentrací PAU v ovzduší na CNS



redukují bílou hmotu mozku
snižují kognitivní funkce u dětí
zvyšují výskyt ADHD
ovlivňují hladinu BDNF

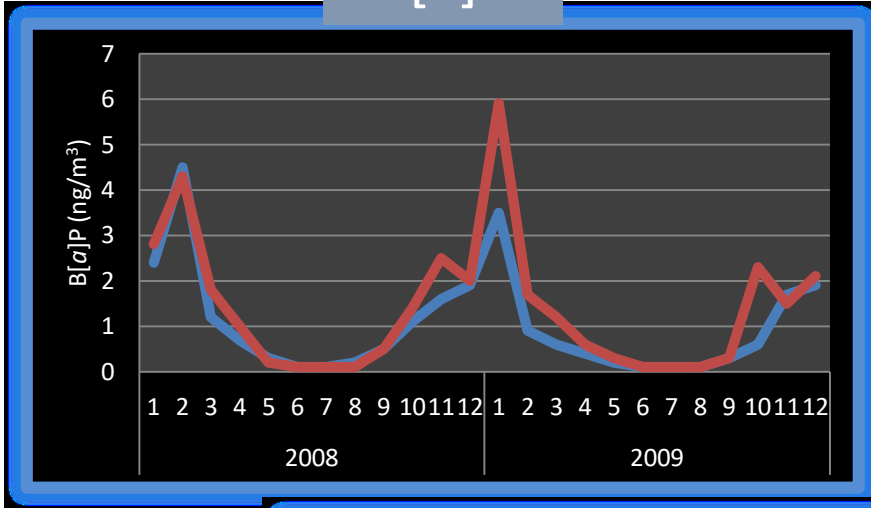


VLIV B[a]P

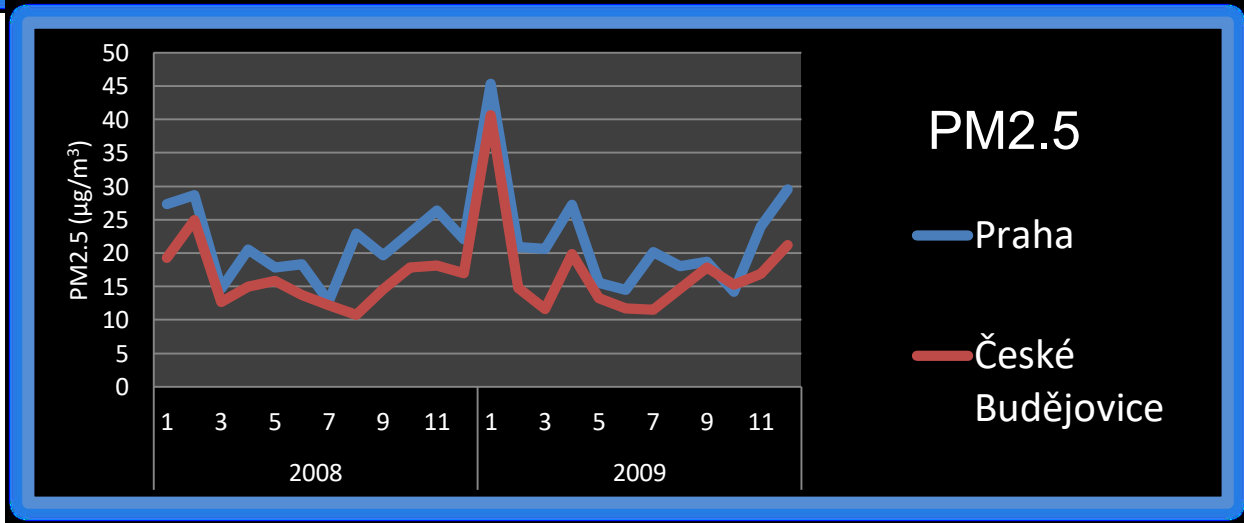
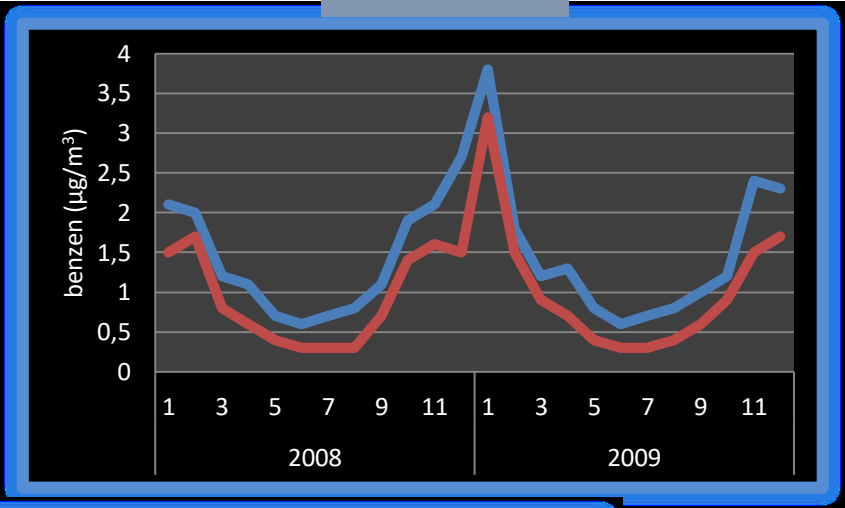
**NA EXPRESI GENŮ
V TĚHOTENSTVÍ**

VÝVOJ KONCENTRACÍ POLUTANTŮ

B[a]P



benzen



VÝSLEDKY STANOVENÍ DNA ADUKTŮ V ŽILNÍ A PUPEČNÍKOVÉ KRVÍ A V PLACENTĚ

(Porovnání - Praha a České Budějovice)

Adukty/10 ⁸ nukl.	N	Žilní krev matky		Pupečnicková krev		Placenta	
		Průměr ± S.D.		Průměr ± S.D.		Průměr ± S.D.	
		B[a]P-like	Celkové	B[a]P-like	Celkové	B[a]P-like	Celkové
Praha	80	0.24±0.18	1.23±1.09	0.23±0.18	0.98±0.89	0.24±0.18	1.15±1.06
Čes. Budějovice	76	0.44*±0.39	1.59*±1.46	0.41*±0.41	1.40*±1.31	0.54*±0.48	1.94* #±1.46

***p<0.001** – významně vyšší hladiny celkových i tzv. B[a]P specifických DNA aduktů ve všech tkáních byly nalezeny u matek a dětí z Českých Budějovic

#**p<0.001** – významně vyšší hladiny DNA aduktů v placentě než v žilní a pupečnickové krvi u matek a dětí z Českých Budějovic

VÝSLEDKY STANOVENÍ OXIDAČNÍHO POŠKOZENÍ

Peroxidace lipidů (15-F_{2t}-isoprostan)

		<i>Žilní krev matky</i>	<i>Pupečnicková krev</i>
pg/ml plasmy	<i>N</i>	Průměr ± S.D.	Průměr ± S.D.
Praha	80	192.9 ± 121.4	304.7 ± 211.9
České Budějovice	76	129.8 ± 118.7	147.0 ± 125.0*

Analýza genové exprese (HumanHT-12 v4 Expression BeadChips)

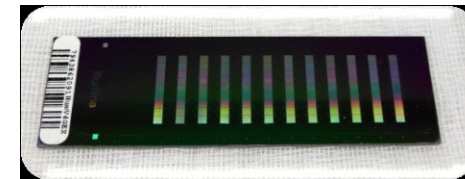
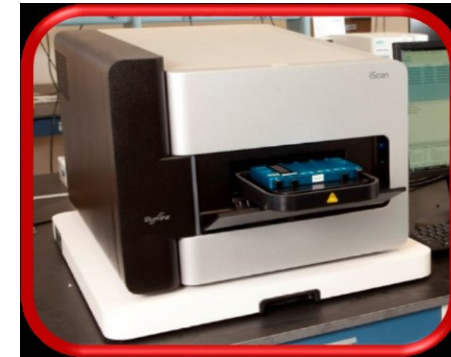
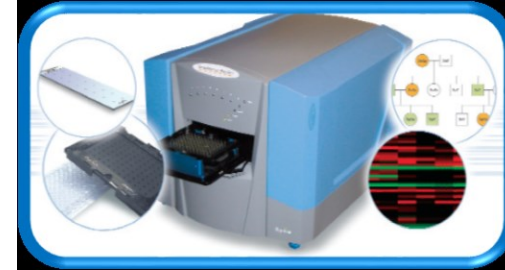
Princip: hybridizace biotinylovaného vzorku cRNA se sondami vázanými na čipech, fluorescenční značení (streptavidin – Cy3) a následná detekce s využitím laserového paprsku

Od Bead Array Readeru k iScanu...

Hlavní aplikace: analýza genové exprese, genotypování, stanovení metylace DNA, cytogenomika

Možnosti a specifikace iScan:

- analýza genové exprese: až 48 804 sond/vzorek
- genotypování: více než 4.3 mil. markerů/vzorek
- metylace DNA: více než 485 000 metylovaných míst/vzorek
- rychlost scanování vzorku: v závislosti na čipu 20 s – 26 min
- kapacita pro genovou expresi – až 4 čipy (48 vzorků)



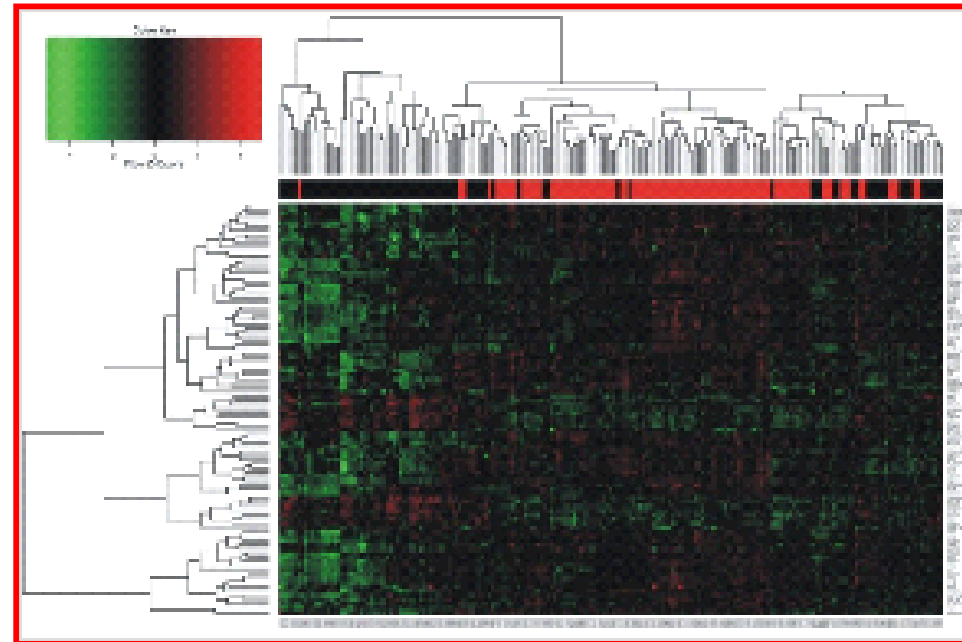
~ 240 vzorků
~ 11,7 milionů výsledků

DEREGULATION OF GENES

Cord blood

Change: **104** genes

37 ↑
67 ↓ CB



Increased expression in CB:
genes related to metabolism
of xenobiotics

Decreased expression in CB
genes related to immune response
and autoimmune diseases

Projekt G-NEW

PROJECT G-NEW

- 1)**
 - 100 mothers
 - 100 newborns
 - Summer 2013
 - Karvina (exposed)
 - Ceske Budejovice (control)

 - 100 mothers
 - 100 newborns
 - Winter 2014
 - Karvina (exposed)
 - Ceske Budejovice (control)

- 2)**
 - Impact of diet
 - 10 mothers – diet for 7 days
 - Each season & location

G-NEW PROJECT

- ➔ PM2.5 Hi-Vol monitoring
- ➔ c-PAHs Hi-Vol monitoring
- ➔ Mothers
- ➔ Urine 8-oxodG, PAHs
- ➔ Plasma 15-F2T-isoP, cotinine, metabolomics
- ➔ Milk PAHs
- ➔ Diet PAHs, questionnaires
- ➔ Newborns
- ➔ DNA adducts by ^{32}P -postlabeling
- ➔ Gene expression
- ➔ Plasma 15-F2T-isoP, metabolomics
- ➔ Urine 8-oxodG, PAHs

PAHs IN DIET – CHEMICAL ANALYSIS

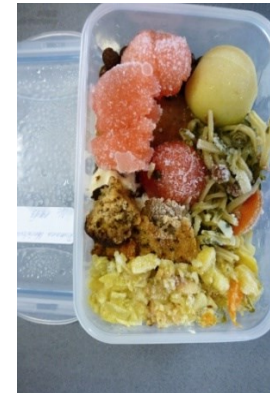
- ¼ of consumed diet
- Daily intake : 1.58 kg



C90 – 30.8.2013



C90 – 31.8.2013



C90 – 1.9.2013



C90 – 2.9.2013



C90 – 3.9.2013



C90 – 4.9.2013

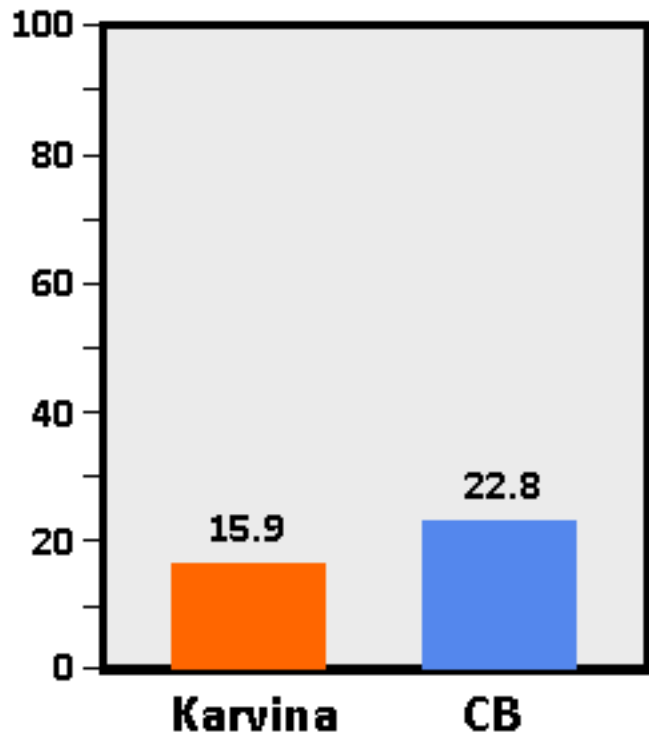


C90 – 5.9.2013

NUTRITIONAL QUALITY OF DIET

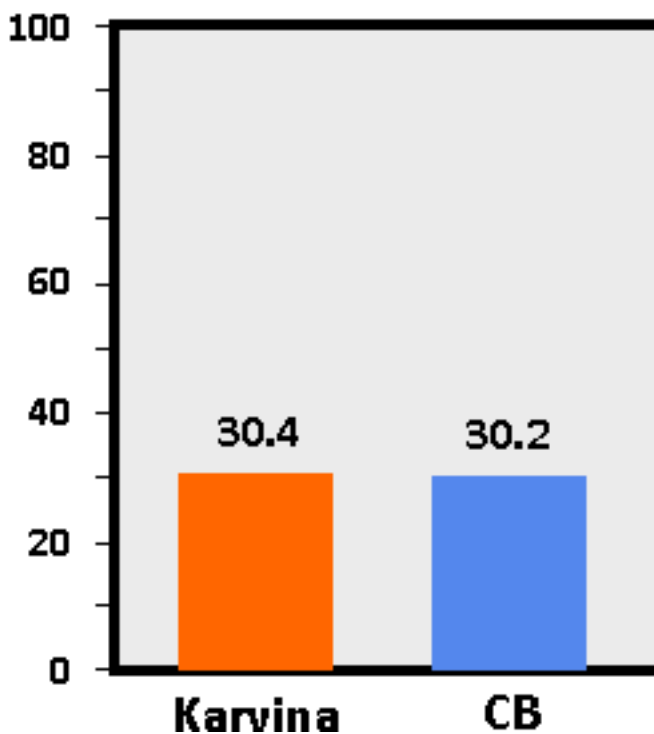
VEGETABLES

% days with RDI 300 g/day



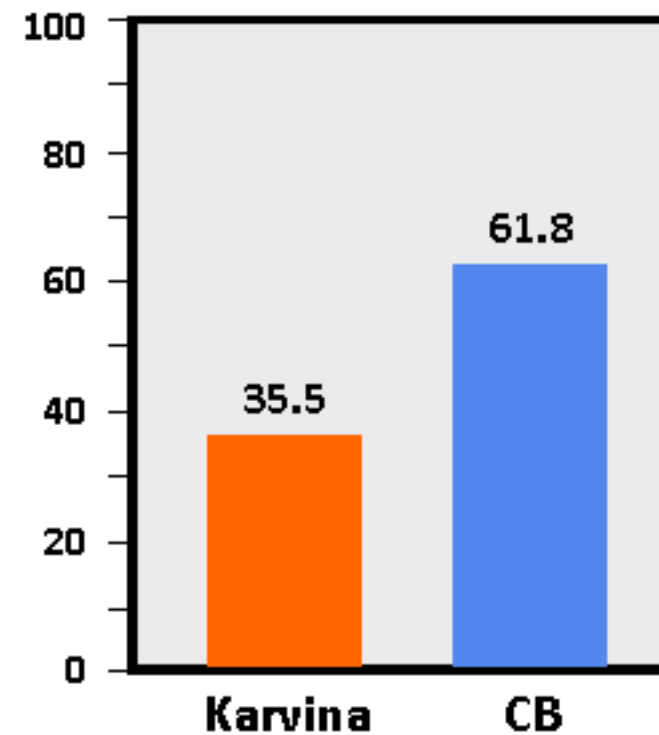
MILK, DIARY PRODUCTS

% days with RDI servings

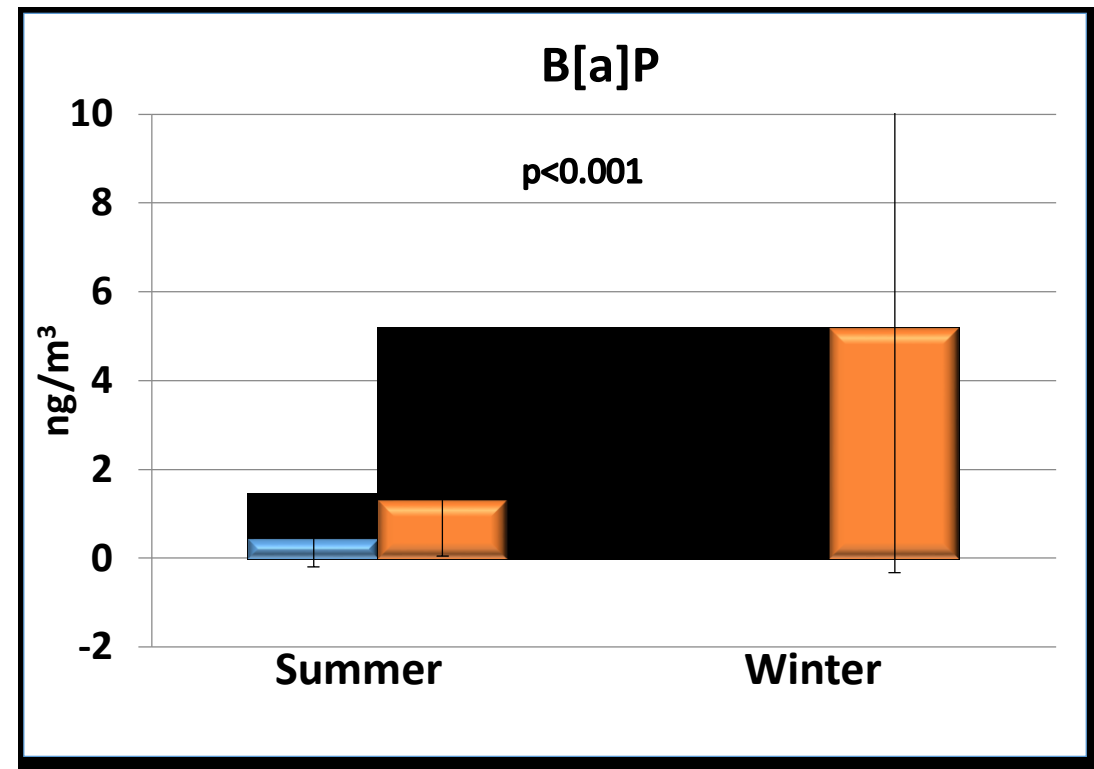
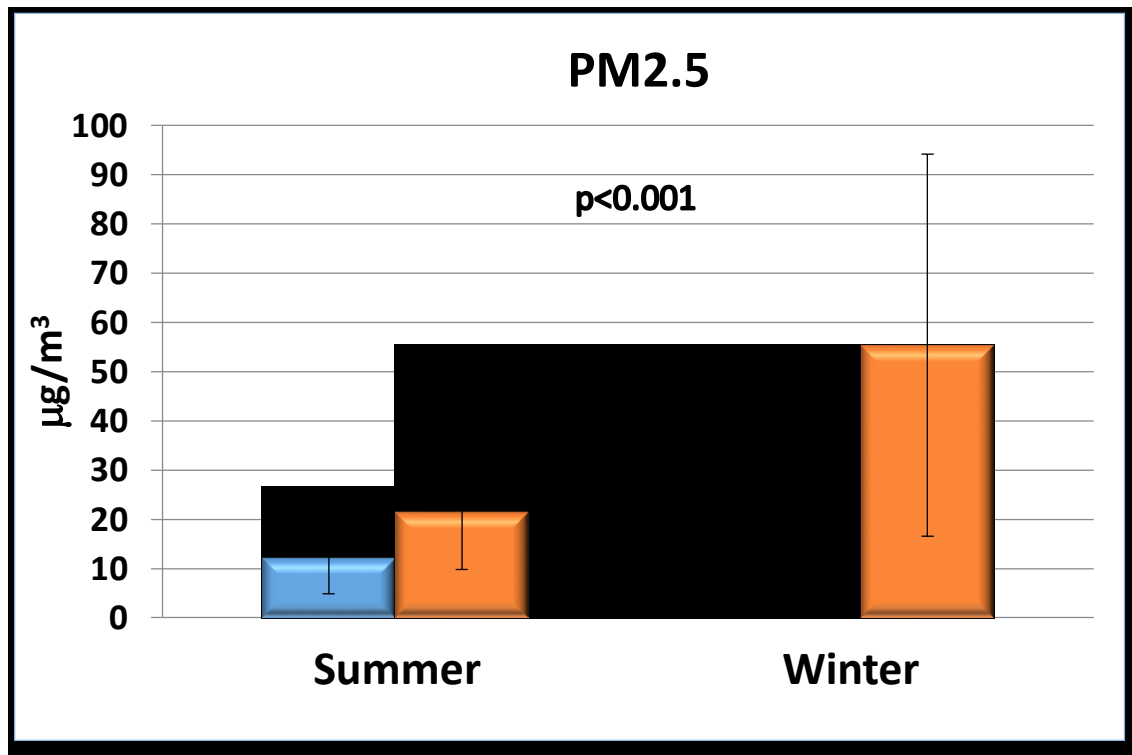


FRUITS

% days with RDI servings



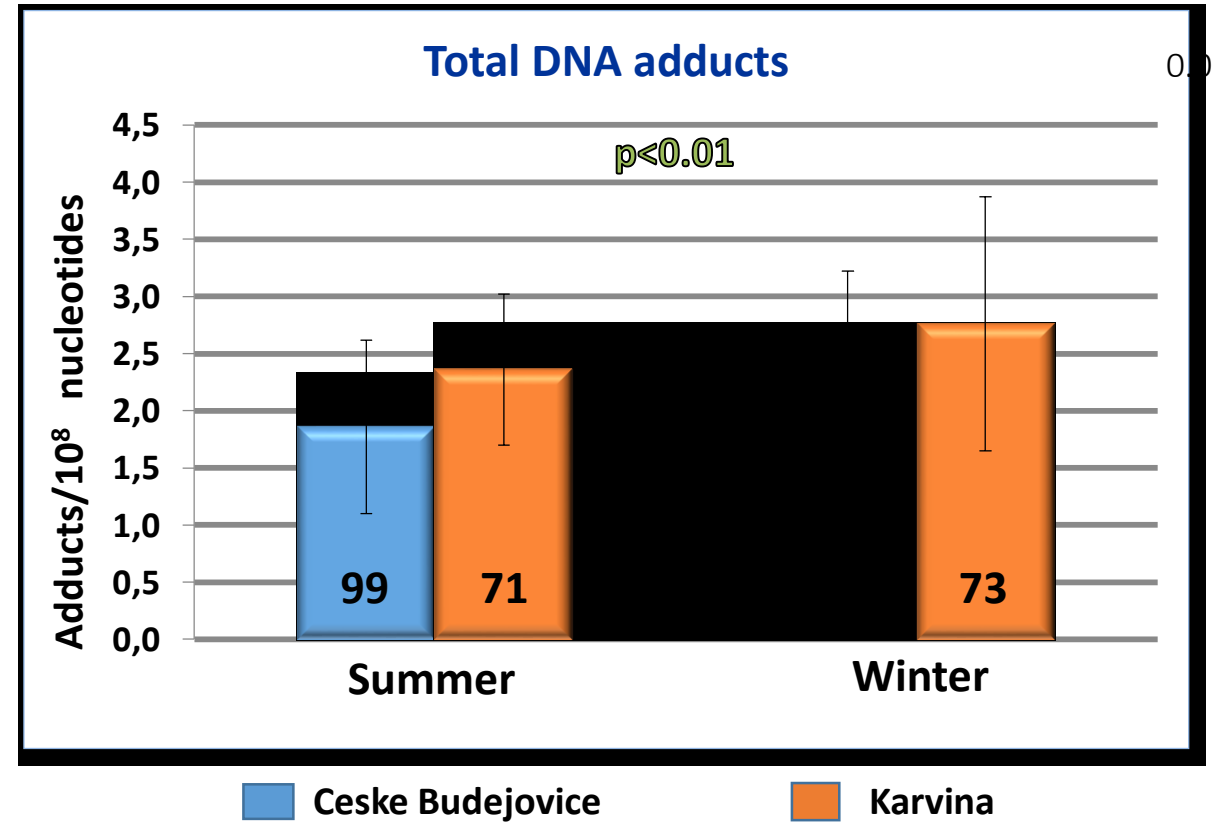
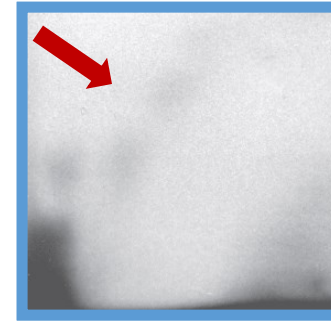
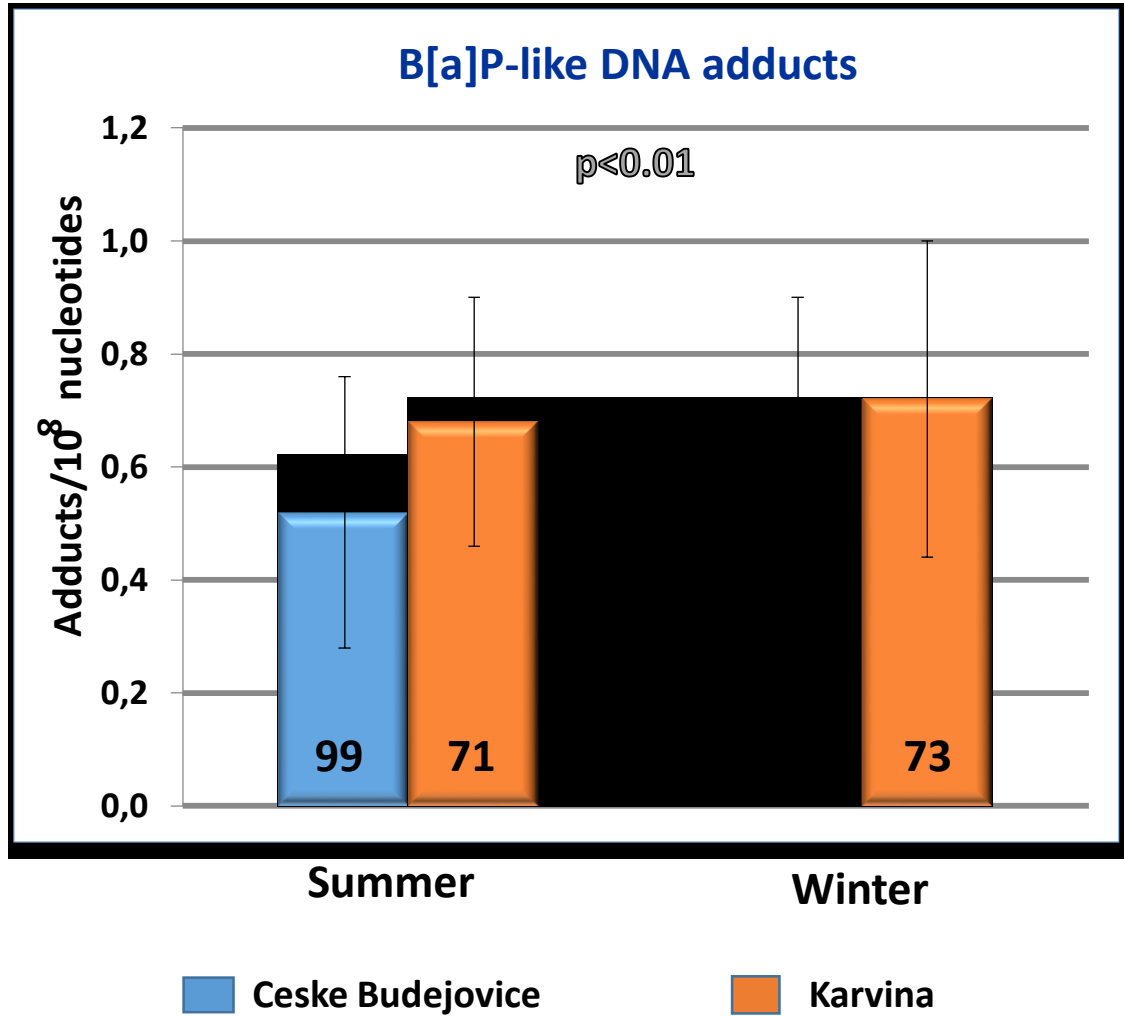
EXPOSURE TO PM 2.5 AND B[a]P



 Ceske Budejovice

 Karvina

DNA ADDUCTS IN NEWBORNS



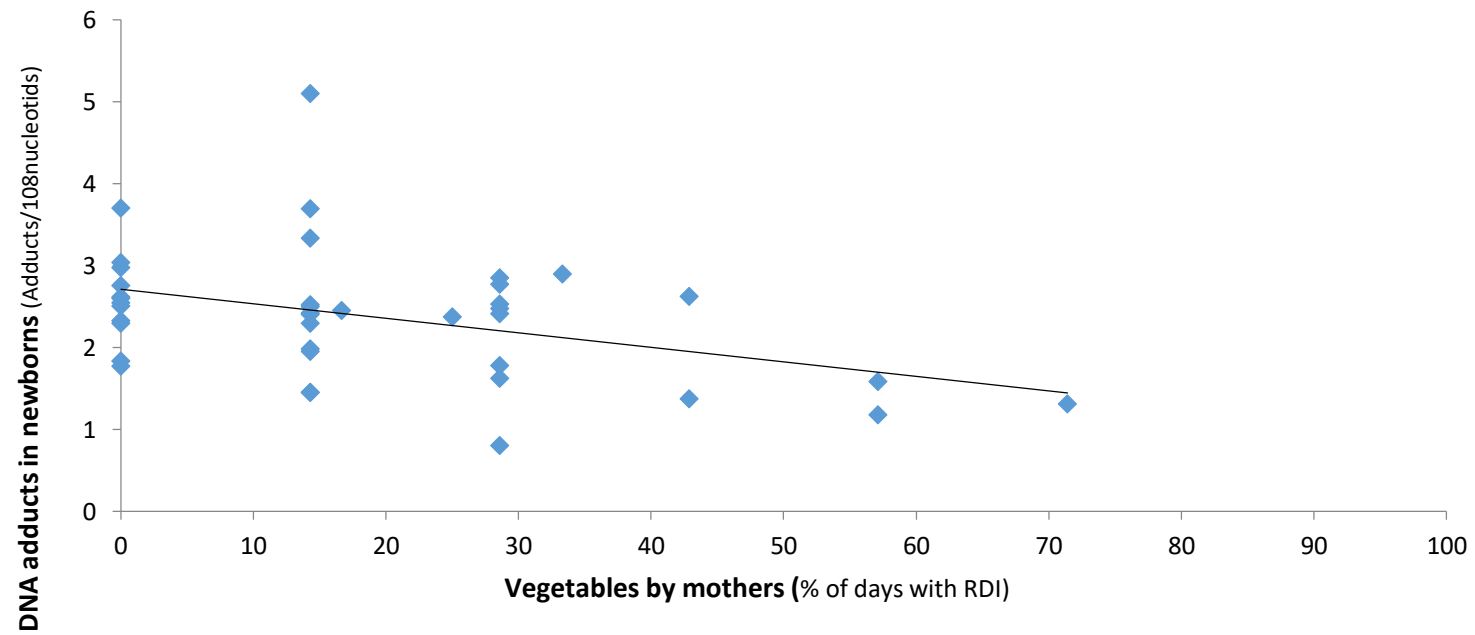
OXIDATIVE STRESS IN NEWBORNS

8-oxod G mmol/mmol creatinine

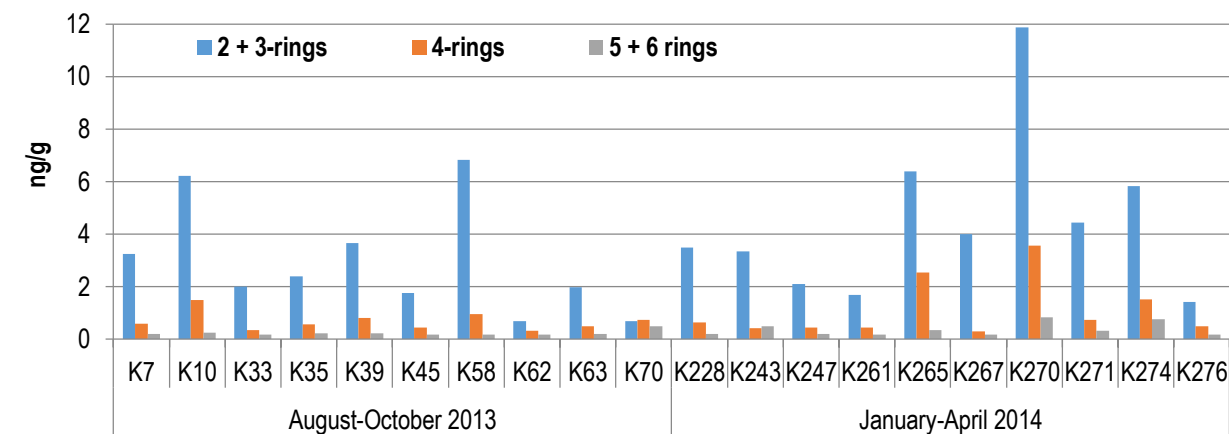
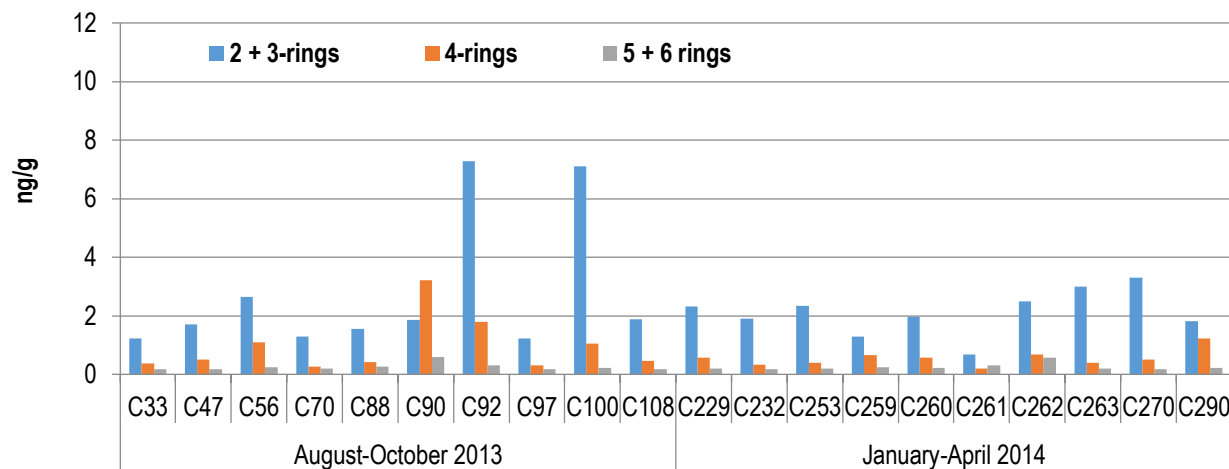
		N	
SUMMER	Ceske Budejovice	99	4.7 ± 1.4
	Karvina	71	4.7 ± 2.4
WINTER	Ceske Budejovice	99	4.2 ± 1.5
	Karvina	73	5.7 ± 2.9 ***

*** p<0.001

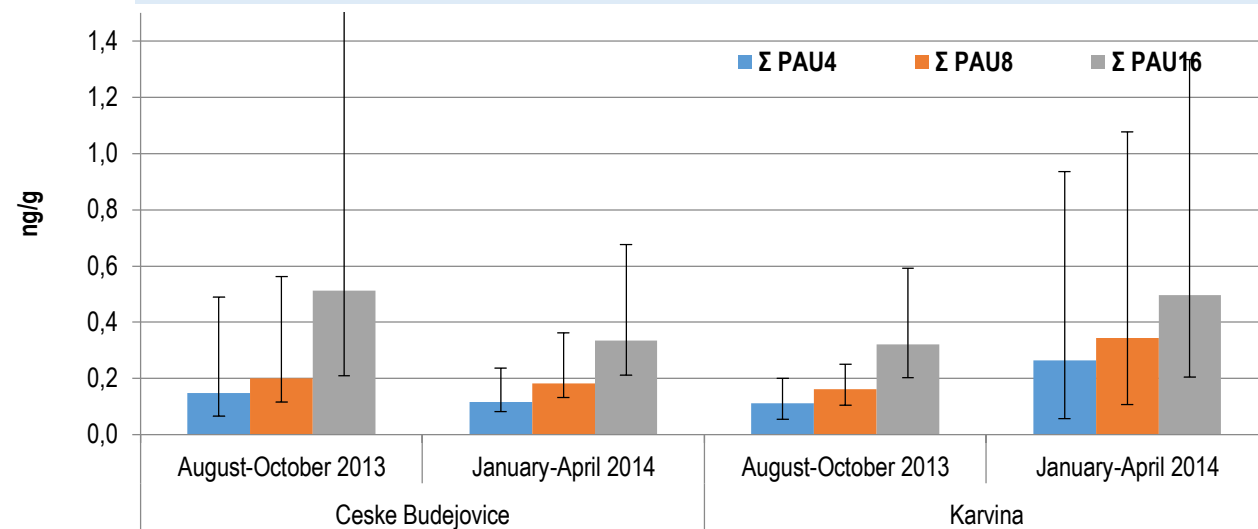
DNA adducts in newborns vs. vegetables intake by mothers



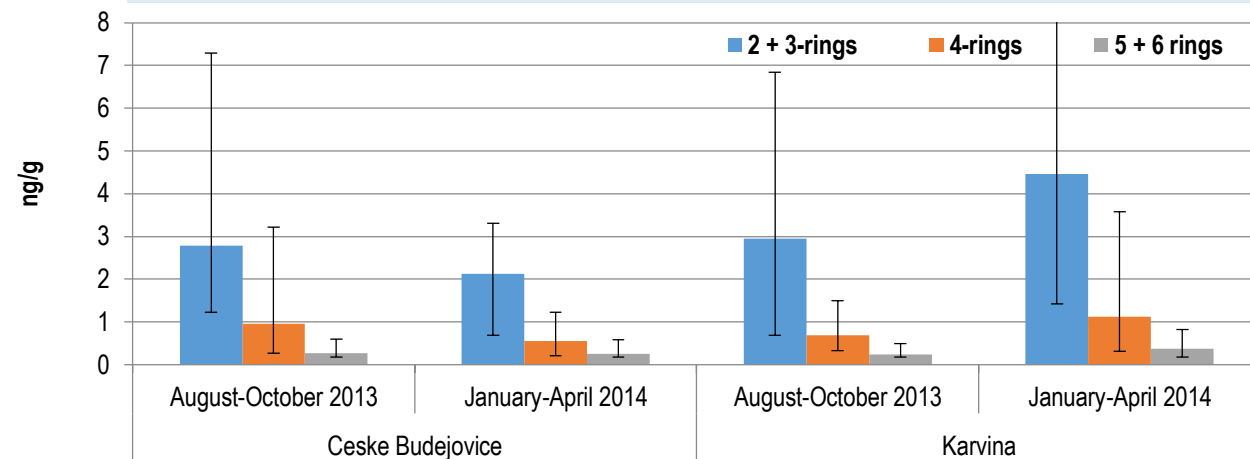
PAHs in diet



Σ PAH4: BaP, CHR, BaA, BbF
Σ PAH8: PAH4, BkFA, BghiP, DBahA, IP



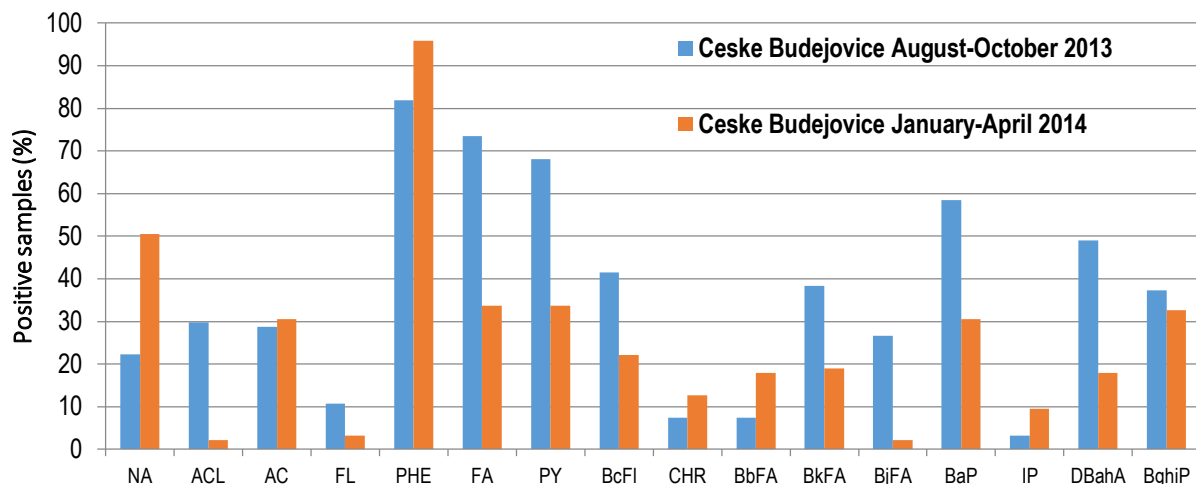
2 + 3-rings PAHs: NA, AC, ACL, FL, PHE, AN
4-rings PAHs: FA, PY, BaA, CHR, BcF, 5MC
5 + 6-rings PAHs: BbFA, BkFA, BjFA, BaP, DBahA, IP, BghiP, CPP, DBaIP, DBaeP, DBaiP, DBahP



* Error bars indicate minimum and maximum concentration

PAHs in human breast milk

2 + 3-rings PAHs: NA, AC, ACL, FL, PHE, AN
 4-rings PAHs: FA, PY, BaA, CHR, BcF, 5MC
 5 + 6-rings PAHs: BbFA, BkFA, BjFA, BaP, DBahA, IP, BghiP,
 CPP, DBaIP, DBaeP, DBaiP, DBahP



Science of the Total Environment 562 (2016) 640-647



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Science of the Total Environment

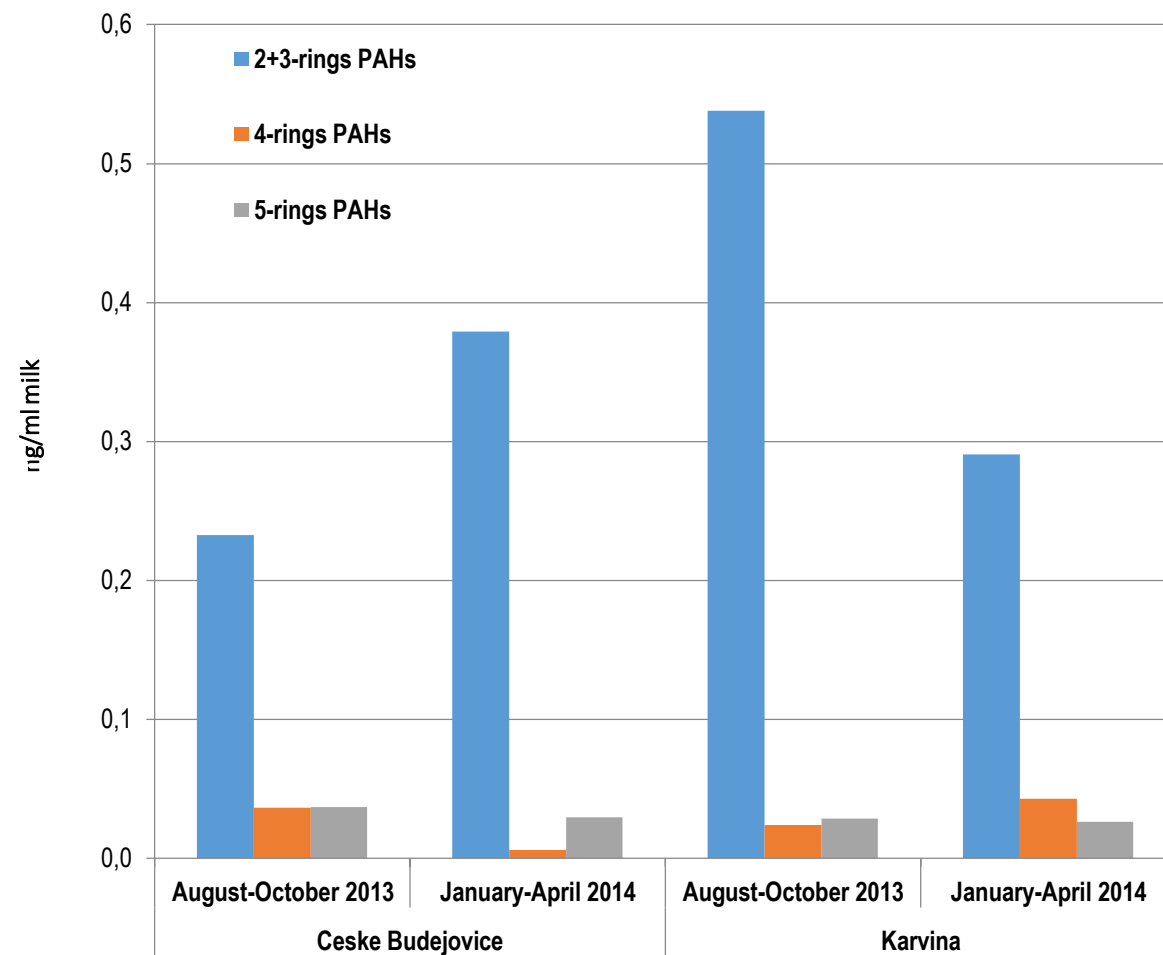
journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

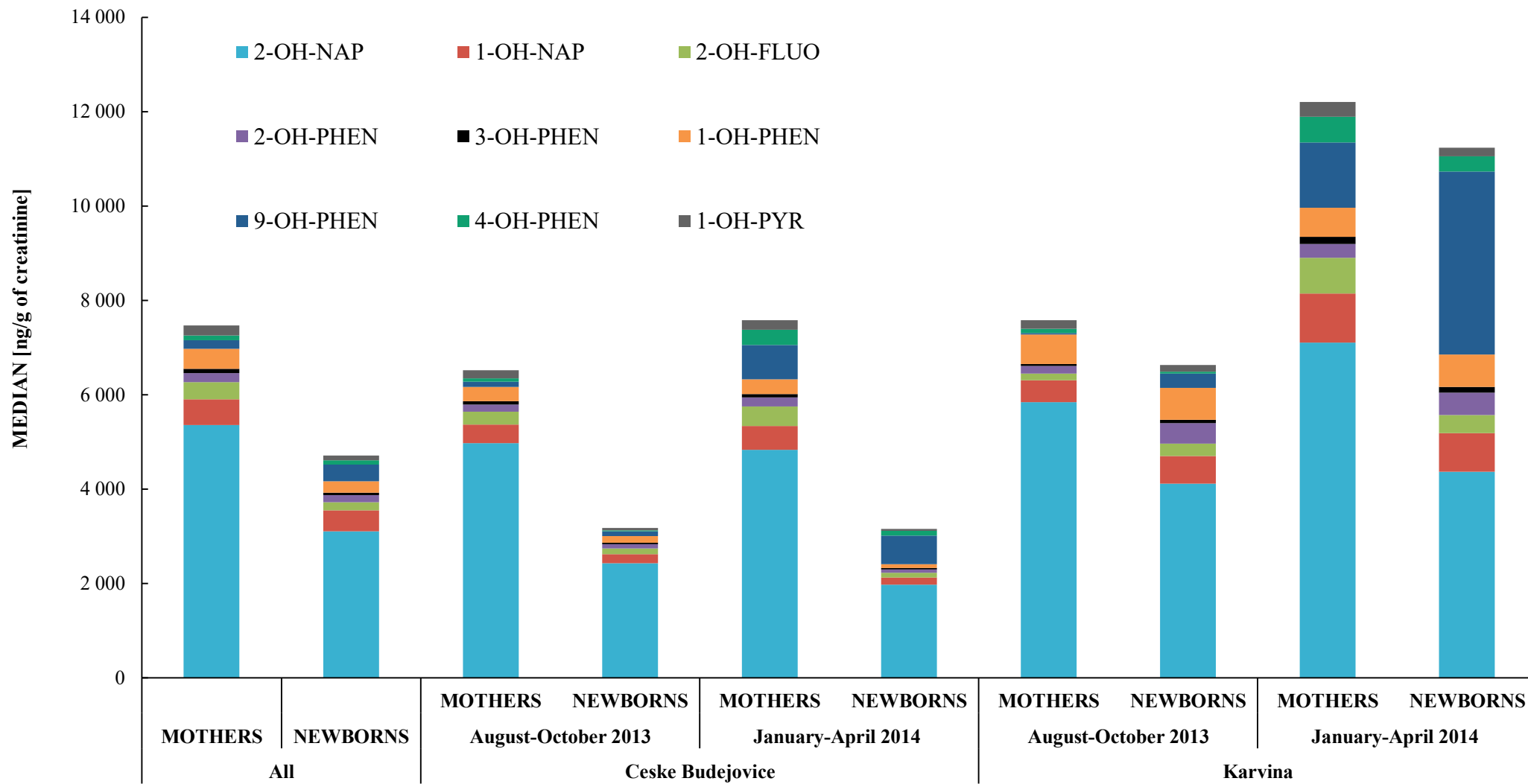


Relationship between atmospheric pollution in the residential area and concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human breast milk

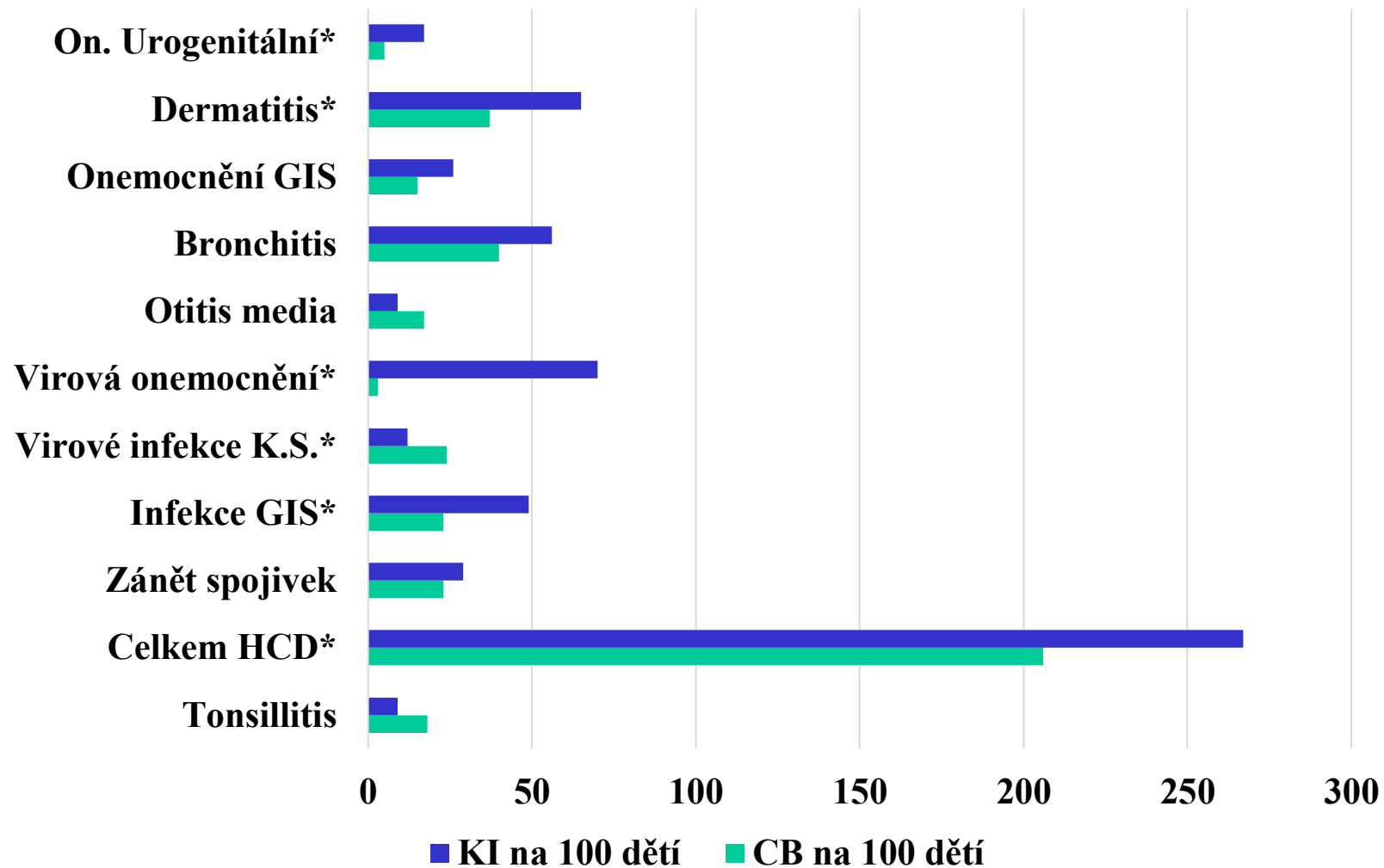
Jana Pulkrabova ^{a,*}, Michal Stupak ^a, Andrea Svarcova ^a, Pavel Rossner ^b, Andrea Rossnerova ^b, Antonin Ambroz ^b, Radim Sram ^b, Jana Hajslova ^a

^a University of Chemistry and Technology, Prague, Faculty of Food and Biochemical Technology, Department of Food Analysis and Nutrition, Technicka 3, 166 28 Prague 6, Czech Republic





V Karviné jsou děti více nemocné než v ČB



BIRTH PARAMETERS

PAH top quartile/others

- Birth length (below median)
- 2-OH-FLUO 2.155 (p=0.0175)
- 2-OH-PHEN 2.398 (p=0.0080)
- 3-OH-PHEN 2.155 (p=0.0175)
- 1-OH-PHEN 1.946 (p=0.0362)
- 1-OH-PYR 3.021 (p=0.0014)
- All-OH-PAH 1.946 (p=0.0362)

Vývoj dětí do 2 let věku

	ČB	Karviná	p
■ Váha narození g	3465±442	3378±443	0.11
24 m. g	12774±1707	12883±1914	0.98
■ Délka narození cm	50.0±1.7	49.2±2.2	0.0002
24 m. cm	88.7±3.6	89.0±4.0	0.49
■ Obvod hlavy nar. cm	34.6±1.4	34.5±1.3	0.36
24 m. cm	49.0±1.6	48.7±1.4	0.11

ZÁVĚRY

- 1) Expozice B[a]P z ovzduší představuje významné zdravotní riziko pro populaci České republiky
- 2) Koncentrace PM_{2.5} and B[a]P byly vyšší v obou sezónách v Karviné
- 3) DNA adukty byly v obou sezónách významně vyšší u novorozenců z Karviné
- 4) Oxidativní poškození DNA bylo vyšší u novorozenců z Karviné během zimy

ZÁVĚRY

- 5) Srovnáním porodů vaginálních a císařským řezem, byla pozorována v Českých Budějovicích vyšší peroxidace lipidů u vaginálních porodů
- 6) Strava může být významným zdrojem expozice PAU, zejména, když jejich koncentrace je v ovzduší nižší
- 7) Nutriční kvalita stravy matek v průběhu těhotenství neodpovídá DDD
- 8) Výsledky naznačují významné genetické a oxidační poškození novorozenců, které může významně ovlivnit jejich nemocnost

Projekt QUALITAS
Strategie AV21

PM 2.5 [µg/m³] average	Month 7	Month 8	Month 9	Month 10	Month 1	Month 2	Month 3	Month 4	Month 5	Month 6
Most	8.4	8.6	15.5	13.5		21.8	22.8	30.7	12.6	8.4
ČB	8.4	7.4	14.7	13.6	34.4	36.0	16.8	12.4	9.0	

B[a]P [ng/m³] average	Month 7	Month 8	Month 9	Month 10	Month 1	Month 2	Month 3	Month 4	Month 5	Month 6
Most	0.0117	0.0319	0.0832	1.0327		1.6575	0.5575	0.4056	0.2263	0.0258
ČB	0.0136	0.0357	0.2007	1.1328	1.3473	2.1260	0.9003	0.2892	0.0962	

15 –F2T – Isop [pg/ml plasmy] average	Month 7, 8, 9, 10	Month 11, 12	Month 1, 2, 3, 4	Month 5,6	Month 7, 8
Most – Children	76.50 (n = 29)	105.89 (n = 34)	76.92 (n = 54)	118.49 (n = 19)	100.54 (n = 15)
ČB - Children	82.54 (n = 107)		103.34 (n =81)	133.32 (n = 23)	
Most - Mothers	46.67 (n = 29)	68.44 (n = 34)	65.42 (n = 54)	67.04 (n = 19)	59.1 (n = 15)
ČB – Mothers	65.10 (n = 106)		66.86 (n = 81)	66.04 (n =23)	

8-oxodG [nmol/mmol creatinine] average	Month 7, 8, 9, 10	Month 11, 12	Month 1, 2, 3, 4	Month 5,6	Month 7, 8
Most – Children	9.14 (n = 28)	9.20 (n = 33)	7.47 (n = 54)	9.09 (n = 18)	6.39 (n = 15)
ČB - Children	5.10 (n = 100)		4.59 (n = 79)	4.15 (n = 23)	
Most - Mothers	1.94 (n = 29)	2.30 (n = 34)	2.24 (n = 54)	1.84 (n = 17)	1.80 (n = 15)
ČB – Mothers	2.04 (n = 107)		1.99 (n = 81)	2.06 (n = 23)	

VÝSLEDKY STUDIE NA NOVOROZENCÍCH MOST vs. ČESKÉ BUDĚJOVICE

- 1) Znečištění ovzduší PM2.5 a B[a]P mezi oběma lokalitami se neliší
- 2) U novorozenců v Mostě bylo pozorováno v moči vyšší oxidační poškození DNA
- 3) U novorozenců v Mostě byly zjištěny vyšší koncentrace PAU v moči
- 4) Získané výsledky naznačují odlišný metabolismus PAU – možná jako důsledek předchozí zátěže rodičů?

ZNEČIŠTĚNÍ OVZDUŠÍ V ČR

(HODNOCENÍ RIZIKA)

- 1) **Nejvýznamnější riziko představuje frakce $< 1 \mu\text{m}$ PM (PM1), na kterou je vázána podstatná část k-PAU**
- 2) **Koncentrace B[a]P $> 1 \text{ ng/m}^3/\text{rok}$ (standard EU) jsou dlouhodobě překračovány u 55% populace ČR**
- 3) **Proto lze zátěž populace B[a]P považovat za nejvýznamnější riziko znečištěným ovzduším v ČR**
- 4) **Pro většinu oblastí ČR představují největší zátěž B[a]P lokální topeniště, v Praze doprava, pro MSK průmyslové zdroje**

ZNEČIŠTĚNÍ OVZDUŠÍ V ČR

(HODNOCENÍ RIZIKA)

- 5) **Novým poznatkem** jsou výsledky, které prokazují vliv B[a]P **na deregulaci genů u novorozenců** (specificky genů ovlivňujících imunitu)
- 6) Prokázaným důsledkem současného znečištění ovzduší **je zvýšená nemocnost dětí předškolního věku, asthma bronchiale u dětí, kardiovaskulární nemocnosti a úmrtnosti, ovlivnění fertility**
- 7) Zvýšené koncentrace B[a]P budou nepříznivě ovlivňovat **současné a příští generace**

PODĚKOVÁNÍ

A. Ambrož

J. Biolek

M. Dostál

K. Hoňková

J. Hajšlová

A. Pastorková

J. Pulkrabová

I. Solanský

V. Švecová

K. Urbancová

M. Velemínský

M. Velemínský, Jr.

PODĚKOVÁNÍ

Podpořeno grantem Strategie AV21

Projekt QUALITAS

a

EU Horizon 2020 HBM4EU

QUALITAS

Kvalitní život
ve zdraví i nemoci



Akademie věd
České republiky

Strategie AV21

Špičkový výzkum ve veřejném zájmu