

Vliv zvýšených koncentrací karcinogenních polycyklických aromatických uhlovodíků na genetický materiál populace MSK



Radim J. Šrám



**Ústav experimentální medicíny AV ČR, Praha
Seminář MŽP ČR, Hustopeče, 10. 11. 2011**

ZNEČIŠTĚNÍ OVZDUŠÍ 2010

(ČHMÚ)

Lokalita	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	33.2 \pm 37.0	3.8 \pm 6.2
Ostrava-Bartovice	61.7 \pm 45.6	46.7 \pm 38.2	7.2 \pm 8.1
Karviná	54.3 \pm 50.0	X	6.3 \pm 8.8
Havířov	52.9 \pm 58.2	X	X
Praha-Smíchov	37.9 \pm 20.1	21.1 \pm 14.2	X
Praha-Libuš	27.4 \pm 16.9	20.3 \pm 13.1	0.9 \pm 1.2
České Budějovice	25.2 \pm 16.9	X	1.5 \pm 1.8

x - neměřeno

VÝSLEDKY MOLEKULÁRNĚ EPIDEMIOLOGICKÝCH STUDIÍ

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

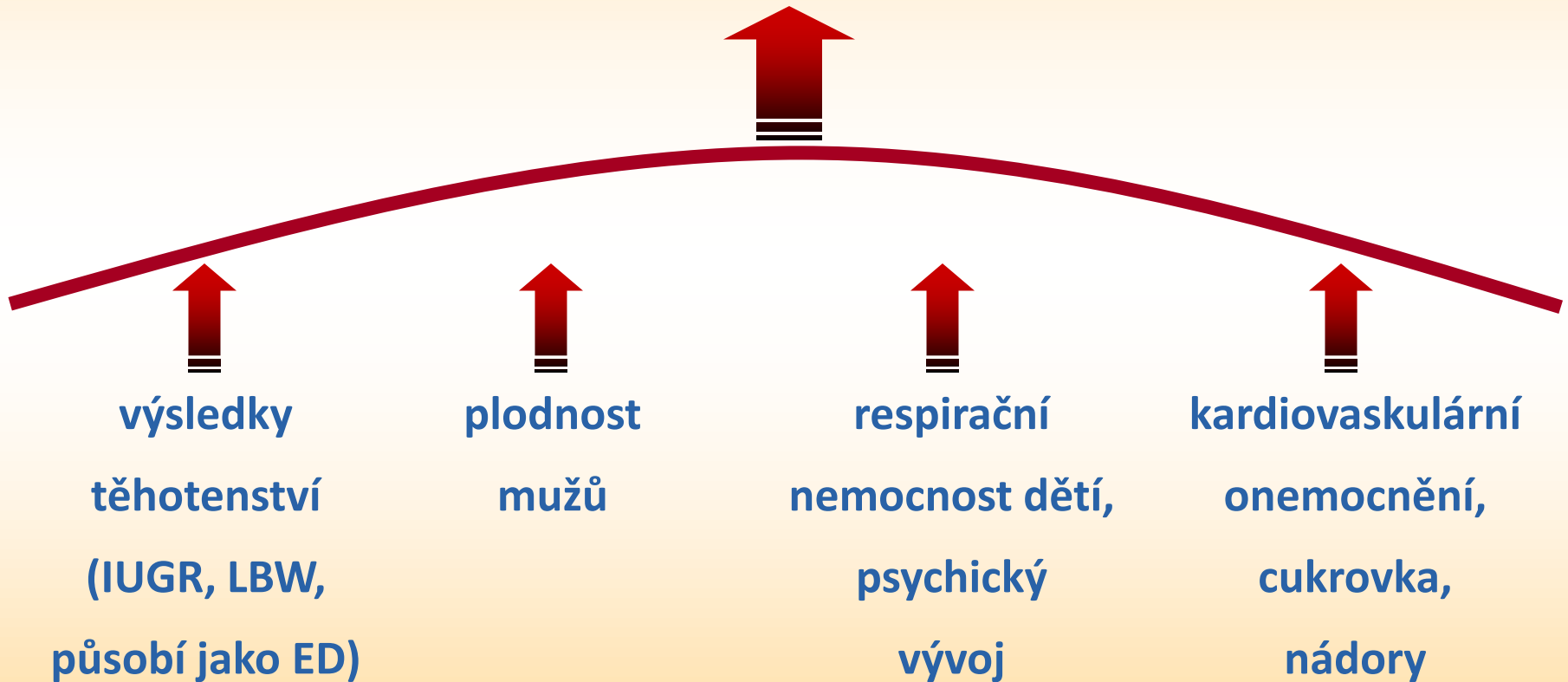
koncentrace
> 1 ng B[a]P/m³
v ovzduší

RIZIKO PRO LIDSKÉ ZDRAVÍ

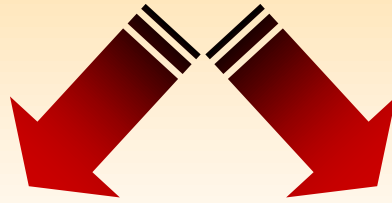
(WHO Bonn 6. 11. 2009)

VÝZNAM k-PAU VE ZNEČIŠTĚNÉM OVZDUŠÍ

RIZIKO PRO LIDSKÉ ZDRAVÍ



PROGRAM OSTRAVA



1.

Projekt

AIRGEN

**(MŽP ČR
č. SP/1b3/8/08)**

2.

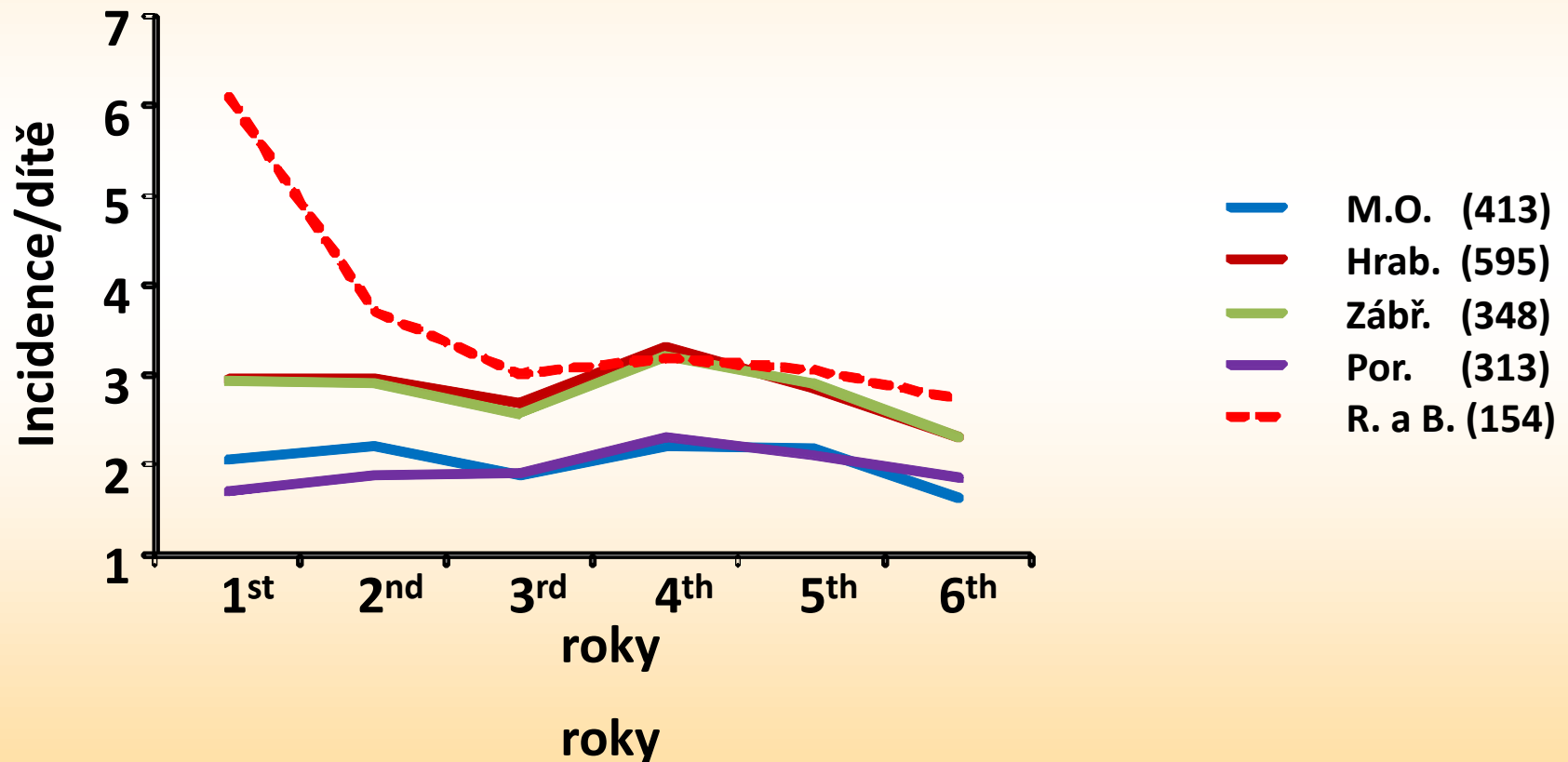
Projekt

AIRTOX

**(MŠMT ČR
č. 2B08005)**

ZDRAVOTNÍ STAV U DĚTÍ

Z. horních cest dýchacích + průdušek + hrtanu a průdušnice + plic + angína + z. středního ucha



ASTHMA BRONCHIALE U DĚTÍ

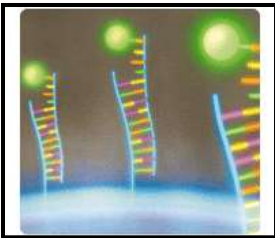
ANALÝZA GENOVÉ EXPRESE

Princip čipové technologie

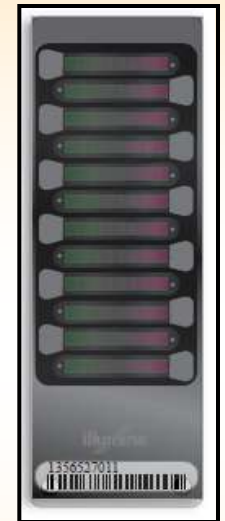


Human HT-12 v3 Expression BeadChip

- 12 pozic pro 12 různých vzorků; detekce transkriptů téměř celého lidského
- genomu současně (48 804 prób pro stejný počet transkriptů)

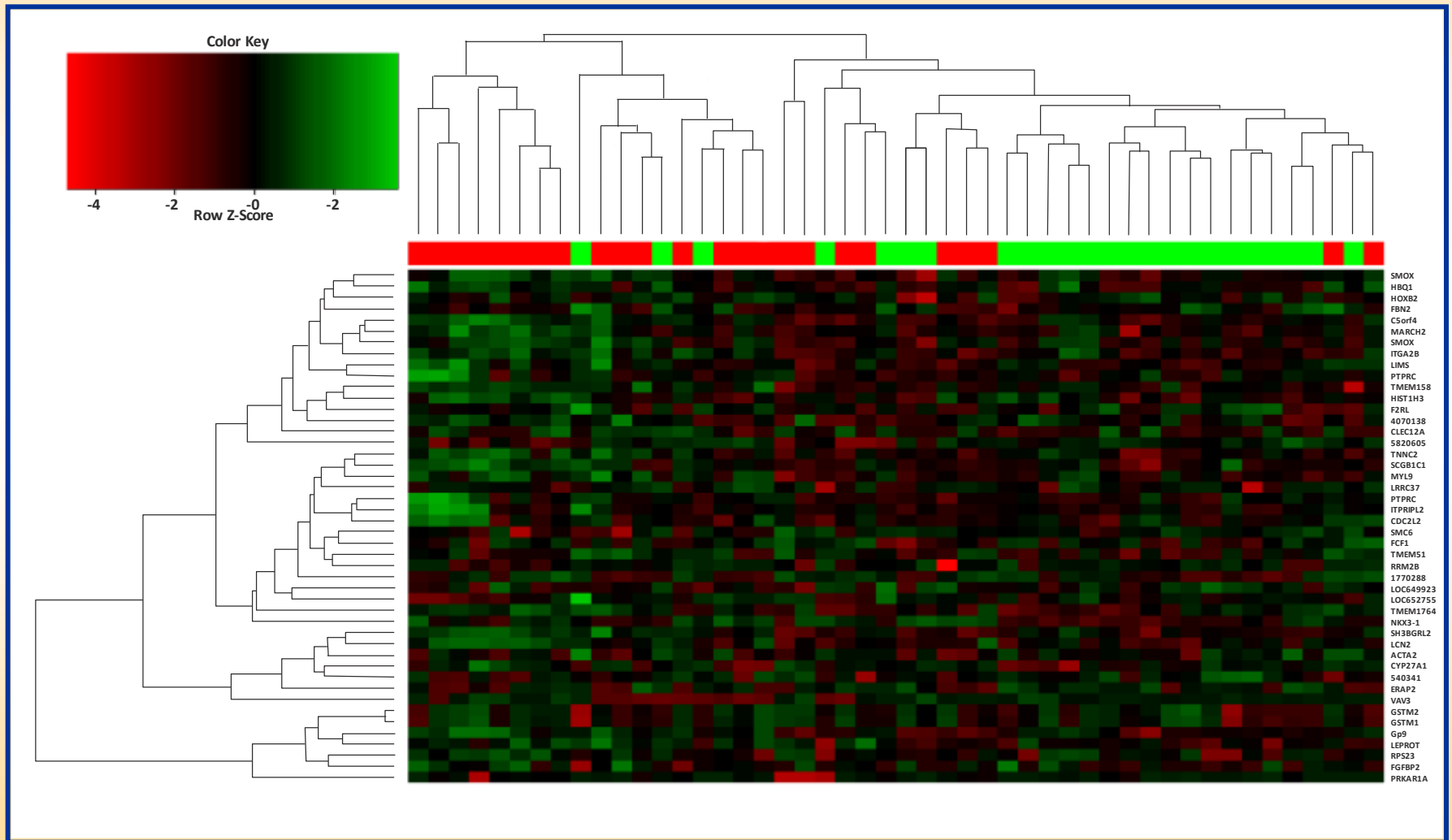


- próba = fragment DNA, představuje 1 gen
- transkripty – značení fluorescenční barvou + vazba na příslušné (komplementární) próby



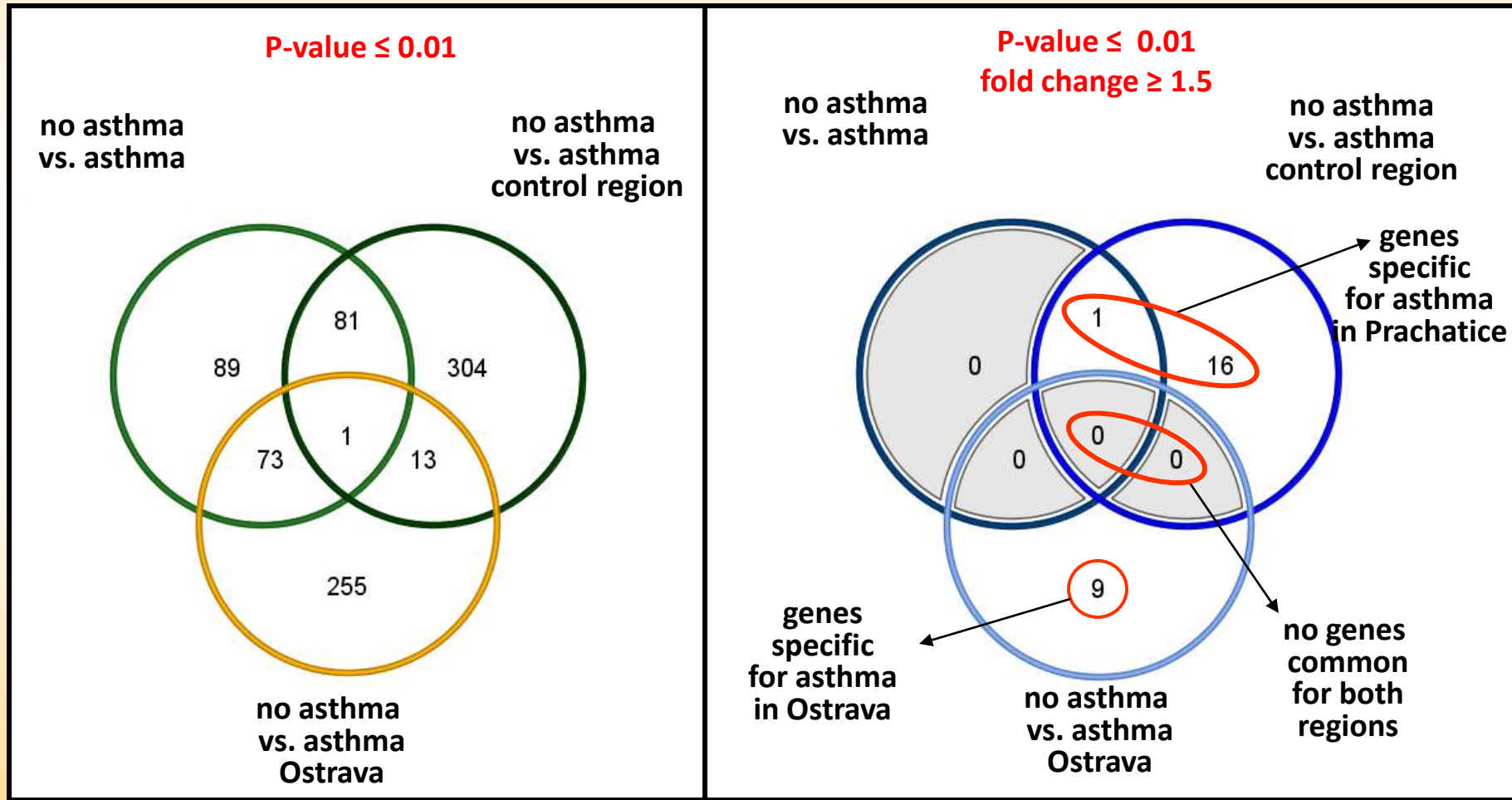
- **Illumina Beadstation 500 GX**
- detekce intenzity fluorescenčního signálu jednotlivých prób
- čím větší intenzita signálu → větší počet transkriptů
- → větší aktivita genu

HIEARARCHICAL CLUSTERING OF DIFFERENTIALLY EXPRESSED GENES IN ASTHMATIC (red) AND HEALTHY (green) CHILDREN SAMPLES



Comparison of 'no asthma' vs. 'asthma' t-test results

In the Venn diagrams shown below, the t-test results obtained using all experiments either with a p-value cutoff of 0.01 or a p-value cutoff of 0.01 and at least a 1.5 fold change are compared






Souhrn



 **Asthma bronchiale na Prachaticku - alergický typ astmatu, odpověď na alergen.**

 **Asthma bronchiale v Ostravě - nealergický typ astmatu, vyvolán iritanty - znečištěné ovzduší, ETS, virové infekce.**

A large teal graphic consisting of two curved arrows forming a circle, one pointing left at the top and one pointing right at the bottom.

**MOLEKULÁRNĚ
EPIDEMIOLOGICKÁ
STUDIE**

PROGRAM OSTRAVA

MOLEKULÁRNĚ EPIDEMIOLOGICKÁ STUDIE

skupiny:

1.

Městští strážníci
v Praze
(kontroly,
N = 65)

2.

Úředníci
v Ostravě
(indoor,
N = 70)

3.

Městští strážníci
v Karviné
(N = 23)

4.

Městští strážníci
v Havířově
(N = 20)

5.

Dobrovolníci
v Ostravě-Radvanicích
(N=28)

HUMAN STUDIES AND BIOMARKERS OF EXPOSURE, EFFECT AND SUSCEPTIBILITY

||| → **PM2.5** Stationary monitoring

||| → **c-PAHs** Personal monitoring
Stationary monitoring

||| → **VOC** Personal monitoring
Stationary monitoring

||| → **Cotinine**

||| → **Triglycerids, Total, HDL and LDL cholesterol**

||| → **Vitamins A, C, E**

||| → **DNA adducts by ³²P-postlabeling**

||| → **Chromosomal aberrations**
FISH,
micronuclei

||| → **Oxidative damage**
8-oxodG, 15-F2T-isoP,
proteins, SCGE

||| → **Genetic polymorphisms**

||| → **Gene expression**

PERSONÁLNÍ ODBĚRY OSTRAVSKO

11. – 28. 1. 2010



B[a]P → 14.6 ng/m³



Autoradiographs of thin layer chromatograms with DNA adduct pattern of:



**DNA isolated from lymphocytes
of subject sampled
in January 2004
(1st sampling period)**



Water blank



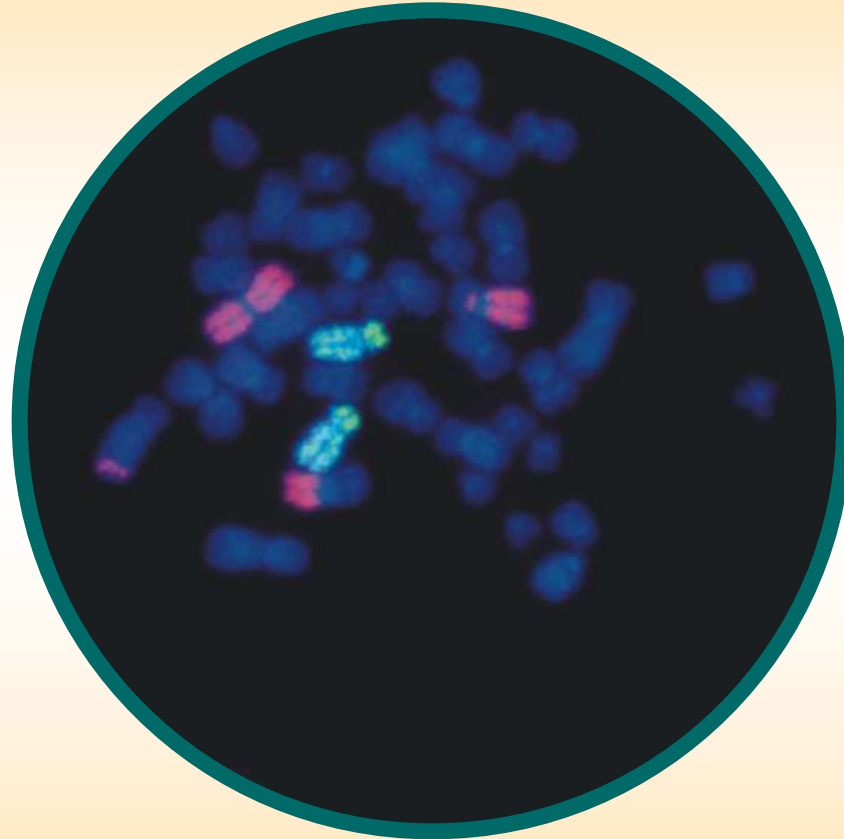
**Positive control (DNA isolated from
the lung of rats intraperitoneally
treated with 100 mg B[a]P/kg b.w.)**

DNA adukty

	N	B[a]P ng/m ²		DNA adukty/10 ⁸ nukleotidů			
				B[a]P –“like“		Celkové	
		2009	2010	2009	2010	2009	2010
Praha	64	0.80 ± 0.55	2.86 ± 1.87	0.21 ± 0.06	0.25 ± 0.12	1.30 ± 0.41	1.37 ± 0.47
Ostravsko	98	2.73 ± 2.60*	14.8 ± 13.3*	0.28 ± 0.08*	0.16 ± 0.06*	1.37 ± 0.37	1.03 ± 0.33*
Kontrola	42	0.80 ± 0.62		0.10 ± 0.03		0.76 ± 0.20	

CYTOGENETIC ANALYSIS

FISH analysis



t(Ab);t(Ab);t(Ba)

Three translocations
between chromosome 1
and unpainted chromosomes

GENOMOVÁ FREKVENCE TRANSLOKACÍ FISH

	N	B[a]P ng/m ²		% AB.B.		F _G /100	
		2009	2010	2009	2010	2009	2010
Praha	60	0.80 ± 0.55	2.86 ± 1.87	0.27 ± 0.18	0.23 ± 0.15	1.43 ± 1.15	1.39 ± 1.03
Ostravsko	98	2.73 ± 2.60	14.8 ± 13.3*	0.26 ± 0.19	0.22 ± 0.18	1.44 ± 1.23	1.25 ± 1.18
Kontrola	42	0.80 ± 0.62		0.21 ± 0.16		1.13 ± 1.01	

Hladiny 15-F2t-IsoP v krevní plasmě v zimním období 2009 a 2010 v Praze a na Ostravsku.

	Lokalita			
	Praha (N=65)		Ostravsko (N=100)	
	Zima 2009	Zima 2010	Zima 2009	Zima 2010
Průměr	165.9	256.5	279.3	279.5
Směrodatná odchylka	41.7	104.7	303.6	124.5
Median	158.4	236.9	179.2	252.3
Minimum	108.7	119.6	101.3	90.6
Maximum	321.2	647.8	2410.3	814.6
Porovnání lokalit (Praha vs. Ostravsko) v rámci období 2009 (p)	<0.001			
Porovnání období (2009 vs. 2010) v rámci lokality Praha (p)	<0.001			

VÝZNAM OXIDAČNÍHO POŠKOZENÍ U DOSPĚLÝCH

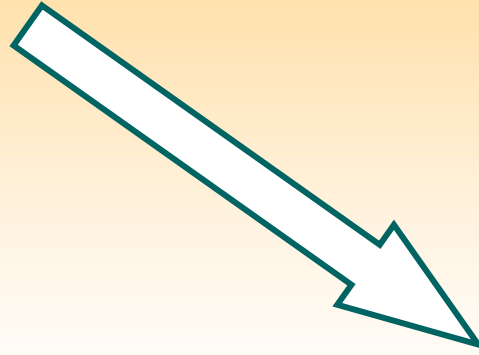
ZVYŠUJE VÝSKYT:

- ⇒ nádorových onemocnění
- ⇒ aterosklerosy
- ⇒ diabetes
- ⇒ Alzheimerovy demence



URYCHLUJE PROCES STÁRNUTÍ

OTÁZKY



**VZTAH
DÁVKY A ÚČINKU?**

**MOŽNÁ ADAPTIVNÍ
ODPOVĚĎ**



ZÁVĚR

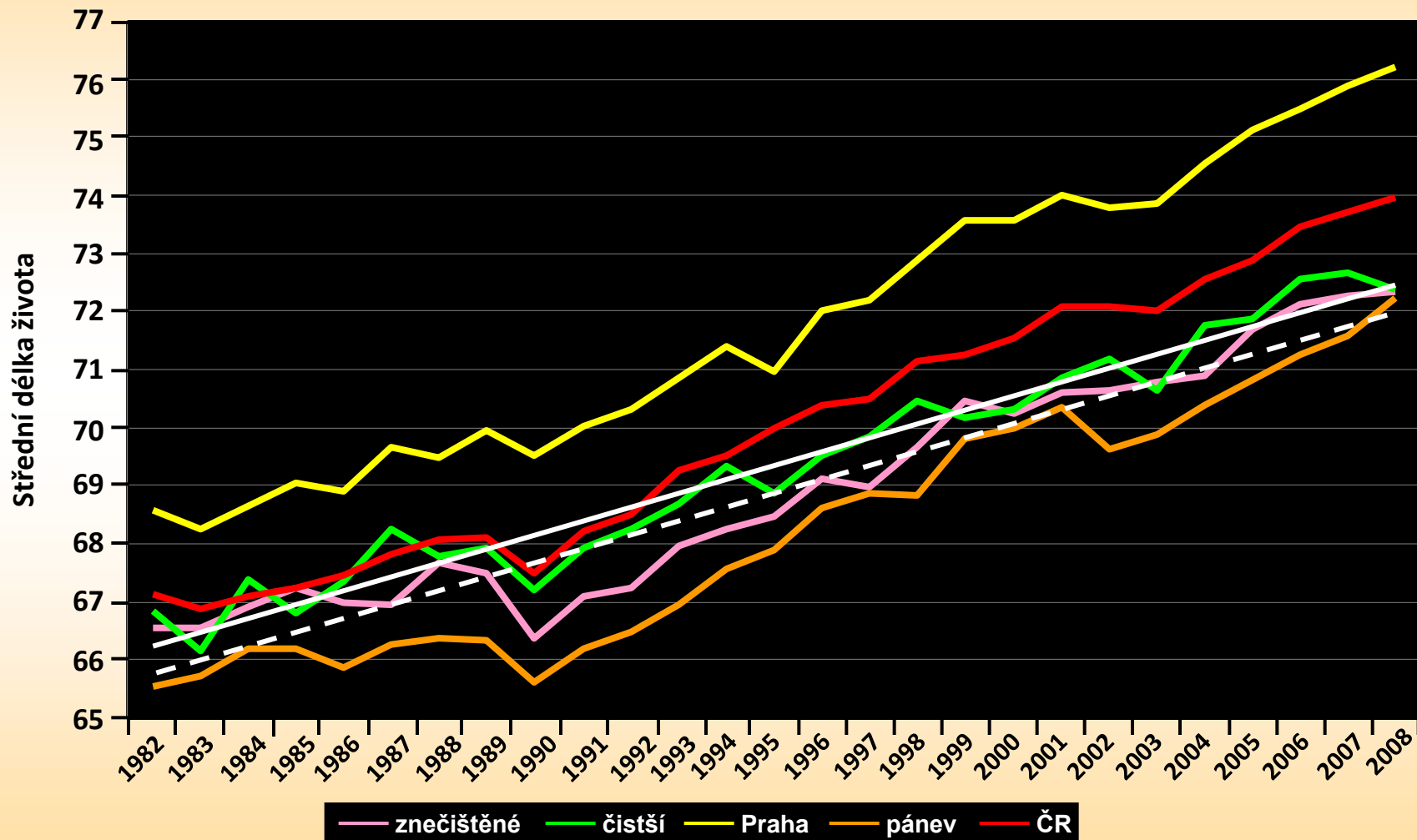


- ➡ **Zvýšená expozice k-PAU ovlivňuje expresi genu *XRCC5*, který patrně snižuje frekvenci translokací u jedinců v Ostravě.**
- ➡ **Zvýšená hladina vitamínu C a E u jedinců v Ostravě snižuje hladinu 8-oxodG v moči.**

A teal graphic consisting of two curved arrows forming a circle. The top arrow points to the left, and the bottom arrow points to the right.

**STŘEDNÍ DÉLKA ŽIVOTA
V LETECH 1982-2008**

Střední délka života ve zneč. a čistší oblasti MSK, v Praze, v pánvi ÚK a ČR – muži



PROGRAM OSTRAVA - NOVÉ POZNATKY

Zdravotní stav dětí

Významné zvýšení respirační nemocnosti dětí
z Ostravy R&B v předškolním věku,
zejména v 1. roce života
(negativní ovlivnění imunity ?)

PROGRAM OSTRAVA - NOVÉ POZNATKY

Studium vlivu genetické výbavy na astma u dětí

- ⇒ Asthma bronchiale na Prachaticku – **alergický typ astmatu**, odpověď na alergen
- ⇒ Asthma bronchiale v Ostravě – **nealergický typ astmatu**, vyvolán iritanty – znečištěné ovzduší ETS, virové infekce

PROGRAM OSTRAVA - NOVÉ POZNATKY

Molekulárně-epidemiologická studie: vliv znečištěného ovzduší na lidský organismus

- ➔ 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 po 3 týdny.**
- ➔ Indukce reparačního genu a vliv vitaminů C a E naznačují **možnou adaptivní odpověď na ovzduší znečištěné k-PAU u chronicky zatížené populace.**

PROGRAM OSTRAVA - NOVÉ POZNATKY

Molekulárně-epidemiologická studie:
vliv znečištěného ovzduší na lidský organismus

➡ Koncentrace B[a]P > 1 ng/m³ **zvyšují peroxidaci lipidů**
(urychlení procesu stárnutí, zvýšení kardiovaskulární
úmrtnosti)

PROGRAM OSTRAVA - NOVÉ POZNATKY

**Studie in vitro:
studium mechanismů toxického působení látek vázaných
na respirabilních prachových částicích**

- ➡ biologická aktivita extraktů z PM2.5 je podmíněna zejména koncentrací k-PAU vázaných na povrchu částic
- ➡ vysoké koncentrace k-PAU v MSK ve srovnání s jinými lokalitami v ČR (Praha, Třeboň, Teplice) jsou **výsledkem znečištění ovzduší průmyslem**

PROGRAM OSTRAVA – HODNOCENÍ RIZIKA

- 1) Koncentrace B[a]P > 1 ng/m³/rok (standard EU) jsou dlouhodobě překračovány**
- 2) Prokázaným důsledkem současného znečištění ovzduší je zvýšená nemocnost dětí předškolního věku, asthma bronchiale u dětí, a kardiovaskulární úmrtnosti**
- 3) Současná nepříznivá environmentální zátěž bude ovlivňovat zdravotní stav populace MSK patrně i příštích 20-30 let**
- 4) Na úrovni vlády ČR je nutné přijmout opatření, aby se znečištění ovzduší snížilo na úroveň jiných oblastí ČR**

SOUČASNÁ SITUACE V MSK

1) Monitorování znečištění ovzduší

2) Popis zdrojů ?

3) Ovlivnění zdravotního stavu ?

4) Hodnocení zdravotních rizik z ovzduší ?

PODĚKOVÁNÍ

O. Beskid
E. Dejmková
M. Dostál
F. Kotěšovec
H. Líbalová
A. Milcová
A. Pastorková
P. Rössner, Jr.
A. Rössnerová

E. Rychlíková
J. Schmuczerová
J. Skorkovský
I. Solanský
M. Špátová
O. Štveráková
V. Švecová
N. Tabashidze
J. Topinka

L. Holý
Z. Pokorná
E. Schallerová
KÚ Ostrava
MP Karviná
MP Havířov
MP Praha 1 a 5
Dobrovolníci
z Radvanic

PODĚKOVÁNÍ

Podpořeno granty

MŽP ČR

Projekt AIRGEN (čís. SP/1b3/8/08)

MŠMT ČR

Projekt AIRTOX (čís. 2B08005)