

Zpráva za 2022

Subdodávka pro dílčí cíle 5.1, 5.2

Oblast – Odhad zdravotních dopadů

Na základě veřejné zakázky –
Hodnocení zdravotních dopadů
znečištění ovzduší na zdraví populace (3)

Cílem této fáze prací na níže uvedených úkolech bylo pokračovat v získávání komplexní a aktuální informace o současném stavu poznání o zdravotních dopadech polycyklických aromatických uhlovodíků včetně nitrovaných a o zdravotních dopadech ultrajemných částic. Základní použitou metodou pro dosažení cílů první fáze výzkumu je zpracování rešerše z dostupné odborné literatury.

Projekt: SS02030031: Integrovaný systém výzkumu, hodnocení a kontroly kvality ovzduší

Autoři: MUDr. Helena Kazmarová, Státní zdravotní ústav

Datum: 30. 11. 2022

Hlavním uživatelem výstupů tohoto projektu je
Ministerstvo životního prostředí

Ministerstvo životního prostředí

Obsah

DC 5.1 Odhad zdravotních dopadů – polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU, včetně nitrovaných).....	2
1. Hlavní a dílčí cíle	2
2. Výsledky projektu	2
2.1. Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU)	2
2.1.1. Vliv na zdraví	3
2.1.2. Karcinogenní účinky PAU	8
2.1.3. PAU a různé typy rakoviny	10
2.1.4. Přístupy k hodnocení karcinogenních účinků PAU	13
2.1.5. Hodnocení směsi PAU	14
2.2. Nitro-PAU	17
3. Diskuze a závěry	25
4. Výzkumné činnosti – prvek novosti.....	26
5. Základní literární podklady	27
DC 5.2 Odhad zdravotních dopadů – vybrané ultrajemné částice.....	37
1. Hlavní a dílčí cíle	37
2. Výsledky projektu	37
2.1. Úvod.....	38
2.2. Hodnocení vlivu na zdraví	42
3. Diskuze a závěry	52
4. Výzkumné činnosti – prvek novosti.....	54
5. Základní literární podklady	55
6. Příloha 1: Mezinárodní projekty s účastí českých partnerů	62
6.1. Projekt UFIPOLNET	62
6.2. Projekt UFIREG.....	62
6.3. Projekt ADAIR.....	66
6.4. Program EU TUBE	67
7. Příloha 2: Použité zkratky a pojmy	69

DC 5.1 Odhad zdravotních dopadů – polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU, včetně nitrovaných)

1. Hlavní a dílčí cíle

Cílem práce na tomto úkolu je získat komplexní a aktuální informace z odborné literatury o současném stavu poznání o zdravotních dopadech polycyklických aromatických uhlovodíků, včetně nitrovaných. Tyto informace budou základem pro zvážení dalšího postupu z hlediska používaného odhadu jejich zdravotních dopadů.

Dílčími cíli této etapy je zpracování odborných podkladů shromážděných v rámci rešerše literatury a systematický popis důkazů o karcinogenních účincích PAU/NPAU na zdraví a aktuálním stavu možností odhadů zdravotních dopadů

2. Výsledky projektu

2.1. Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU)

Polycyklické aromatické uhlovodíky jsou skupinou organických látek s dvěma a více benzenovými jádry. Patří mezi široce rozšířené znečišťující látky, jsou emitovány do ovzduší z mnoha různých zdrojů. Vznikají zejména jako následek nedokonalého spalování přírodních nebo syntetických organických látek, včetně spalování biomasy. Nízkomolekulární PAU se vyskytují převážně ve formě par, vysokomolekulární pak jsou vázány na pevné částice. Od svého zdroje se mohou šířit mnoha médii, například vzduchem, vodou a mohou se ukládat v půdách. Mají schopnost přetrvávat v prostředí, kumulují se v jeho složkách a v živých organizmech, jsou lipofilní a řada z nich má toxické, mutagenní a karcinogenní vlastnosti.

Na základě výskytu v životním prostředí a toxicity určila Agentura Spojených států pro ochranu životního prostředí (EPA) a Evropská komise a její Vědecký výbor pro potraviny řadu prioritních polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU).

Výsledkem je, že 24 PAU patří mezi ty, které mají nejvyšší prioritu pro hodnocení rizik. Vzhledem k tomu, že 16 prioritních PAU identifikovaných EPA (naftalen, acenaftylen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, pyren, fluoranthen, benzo[*a*]anthracen, chrysen, benzo[*b*]fluoranthen, benzo[*k*]fluoranthen, benzo[*a*]pyren, indeno[1,2,3-*cd*]pyren, benzo[*ghi*]perylene a dibenzo[*ah*]anthracen), označovaných jako „PAU16“, je možná nejrelevantnějších pro měření PAU v ovzduší, výskyt a úroveň koncentrací těchto PAU jsou vcelku dobře prostudovány.

Přes své strukturální podobnosti se PAU velmi liší ve své karcinogenní potenci, přičemž jsou Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC) klasifikovány jako možné (skupina 2B), pravděpodobné (skupina 2A) nebo prokázané lidské (skupina 1) karcinogeny (51). Obecně platí, že větší PAU (s více než čtyřmi kruhy) mají vyšší karcinogenní potenciál než menší PAU.

Benzo[*a*]pyren - BaP je v současnosti jedinou PAU, která je klasifikována jako lidský karcinogen (skupina 1). Nejúčinnějším genotoxickým a karcinogenním PAU je podle současných poznatků dibenzo[*al*]pyren (skupina 2A), který je na základě studií *in vivo* považován za až 100krát účinnější než BaP. Přítomnost a hladiny benzopyrenů, jsou ale méně prozkoumány, což by mohlo mít dopad na odhad rizika PAU z ovzduší.

2.1.1. Vliv na zdraví

Vzhledem k tomu, že některé PAU jsou dobře známé karcinogeny, je pozornost při hodnocení soustředěna na riziko vzniku nádorových onemocnění, zejména rakovinu plic. Je však třeba vzít v úvahu i další druhy novotvarů, jako je rakovina prsu a rakovina u dětí v městských oblastech. Kromě toho patří PAU mezi endokrinní disruptory, ovlivňují porodní váhu a růst plodu a působí imunosupresivně snížením hladin imunoglobulinů. Existují náznaky, že s expozicí PAU mohou souviset i některé další zdravotní účinky, včetně rozvoje a exacerbace astmatu a KVO. Byly také hlášeny nežádoucí účinky na nervový vývoj dětí.

- Expozice

K expozici člověka PAU dochází dýcháním, kontaktem s kůží nebo požitím potravin kontaminovaných PAU. Denní příjem PAU inhalací představuje mnohem menší množství než požitím potravin, které patří mezi hlavní zdroje příjmu PAU, zejména větších PAU se čtyřmi až šesti aromatickými kruhy. Zemědělské plodiny mohou absorbovat PAU prostřednictvím kořenového systému z půdy nebo atmosférickou depozicí (16). Další zdroje PAU v potravinách mohou souviset s různými procesy tepelné úpravy; k jejich vzniku může přispívat například opékání, grilování, pražení, smažení a pečení. Hladiny PAU v krvi a moči jsou směsí sloučenin, které pocházejí z nejrůznějších zdrojů a do organismu se dostaly různými cestami. Hladiny metabolitů některých těkavějších PAU, jako jsou pyren, naftalen a fenantren v moči se však často používají jako náhradní látky pro hodnocení expozice PAU prostřednictvím vdechovaného vzduchu (18).

- Metabolismus PAU

PAU po vstupu do organismu podléhají vícestupňové metabolické aktivaci specifickými enzymy oxidačního systému. Enzymy fáze I, jako je cytochrom P450 a peroxidázy katalyzují monooxygenaci PAU za vzniku fenolů a epoxidů. Mohou také vznikat reaktivní formy kyslíku a reaktivní elektrofilní metabolity s potenciálem inaktivovat sulfhydrylové skupiny důležité pro aktivitu mnoha centrálních signálních enzymů a transportérů. Epoxidy pak ve II fázi tvoří polární konjugáty s glutathionem, kdy dochází k detoxikační reakci. Epoxidy, které nejsou konjugovány s glutathionem, jsou konvertovány na fenoly a dioly, které musí být konjugovány s kyselinami glukuronovou nebo sírovou, aby byla umožněna jejich exkrece.

Účinky PAU mohou být také vyvolány specifitější vazbou mateřských sloučenin na buněčné receptory, jako je arylový uhlovodíkový receptor (AhR) a β 2-adrenergní receptor spřažený s G proteinem. Vznikají reaktivní formy kyslíku, které mohou mít prozánětlivé účinky (1). Předpokládá se, že vazba AhR ligandu zprostředkovává imunomodulační účinky prostřednictvím nengenomických signálů, včetně zvýšení vnitrobuněčného vápníku (2).

Hydroxylované (OH) metabolity PAU ve vzorku moči jsou široce používanými biomarkery pro hodnocení implikované expozice člověka řadě PAU (55). Běžně detekovanými metabolity v moči jsou nízkomolekulární PAU, včetně naftalenu, fluorenu, fenantrenu a pyrenu. Existují důkazy, že vysokomolekulární PAU s více než 4 aromatickými kruhy, zejména benzo[a]pyren, se vylučují převážně stolicí a v moči nejsou detekovatelné (56).

- **Nekarcinogenní účinky PAU**

Chronická expozice směsím PAU v ovzduší má za následek řadu různých, více či méně dobře popsáných a prokázaných, toxických účinků.

- **Účinky na respirační ústrojí a imunitní systém**

Imunomodulační vlastnosti AhR naznačují, že expozice PAU může změnit respirační imunitní reakce a může tak být potenciálně důležitá pro rozvoj respiračních onemocnění. Prozánětlivé a AhR imunomodulační vlastnosti PAU mohou vést k produkci cytokinů a chemokinů, buněčné smrti a narušení epiteliální bariéry (1, 3) Reakce mohou zahrnovat zvýšené hladiny neutrofilů, eozinofilů a makrofágů a produkci reaktivních forem kyslíku, které jsou důležitými složkami plicního zánětu. Trvalý zánět může vyvolat exacerbaci a přispět k rozvoji plicních onemocnění, jako je astma a chronická obstrukční plicní nemoc (3, 4) Studie dále naznačují, že PAU mohou působit prostřednictvím imunoglobulinu E (IgE) ke stimulaci zánětlivých reakcí a zesílení alergických reakcí (4). PAU jsou imunotoxické, působí imunosupresivně, snížením hladin imunoglobulinů IgG a IgA. Narušení epiteliální bariéry v důsledku buněčné smrti vyvolané reaktivními druhy PAU nebo reaktivními druhy kyslíku může také zvýšit pravděpodobnost expozice různým patogenům (5). Tím může být zvýšena pravděpodobnost vzniku plicních infekcí (1, 3, 6)

Účinky expozice PAU na astma a respirační funkce byly shrnuty v přehledové práci (7). Epidemiologické studie ukázaly, že expozice PAU je spojena s nástupem astmatu a nárůstem astmatických příznaků u dětí (4). V případové a kontrolní studii u 195 dětí byla detekována silná souvislost mezi sérovými PAU a biomarkery dětského astmatu (22). V jiné případové a kontrolní studii dětí byla expozice PAU, měřená jako 1-hydroxypyren v moči, spojena s astmatem (23). Současně se na základě několika studií zdá, že existuje pouze nepatrná nebo žádná souvislost mezi expozicí PAU a plicními funkcemi u dětí (8). V obecné populaci a také v pracovním prostředí byly naopak pozorovány souvislosti mezi poklesem parametrů plicních funkcí a zvýšenými hladinami metabolitů PAU v moči (10,11). Několik studií naznačuje, že expozice plodu PAU v době těhotenství narušuje vývoj plic a vede k respiračním symptomům brzy po narození (4, 9).

Epidemiologické studie na lidech v kombinaci s experimentálními studii poskytují určitou podporu hypotéze, že expozice PAU vázaným na PM částečně vysvětluje zvýšené riziko respiračních onemocnění pozorované po expozici PM (7). Úlohu PAU je však obtížné oddělit od ostatních znečišťujících látek ze spalovacích procesů, včetně částic jako takových.

Současné poznatky o mechanismech vzniku nezhoubných respiračních onemocnění vyvolaných znečištěním ovzduší tedy neumožňují stanovit žádné směrné hodnoty, ani říct, do jaké míry současné pokyny pro kvalitu ovzduší pro B[a]P, které jsou založeny na jeho karcinogenním potenciálu, poskytují ochranu proti jiným respiračním onemocněním potenciálně ovlivněným expozicí PAU. Tato úroveň důkazů také neposkytuje podklady, které by byly potřebné pro samostatné vyhodnocení vlivu PAU na respirační nenádorová onemocnění.

- Účinky na kardiovaskulární systém

Předpokládá se, že jedním z biologických mechanismů, které se mohou uplatňovat při působení aerosolových částic na kardiovaskulární systém je chemické složení částic, konkrétně obsah organických látek, i když se mohou podílet také jádra uhlíkatých částic. (13,14,15) Studie na zvířatech ukázaly, že částice výfukových plynů z diesellových motorů, z nichž byly odstraněny organické chemikálie, ztrácejí svůj potenciál vyvolat aterosklerózu (19). To je dále podpořeno experimentálními studii in vitro, které ukazují, že mnoho biologických účinků souvisejících s kardiovaskulárními nemocemi, které byly pozorovány jako následek expozice částicím ze spalovacích procesů, může být spojeno s jejich extrahovatelnými sloučeninami (13, 14, 15, 16, 17, 18). Vzhledem ke komplexnímu složení spalovacích PM je nepravděpodobné, že by za různými kardiovaskulárními účinky stála jediná chemická látka, chemická skupina nebo složka (20). Zatímco se do krevního oběhu dostane pouze malý počet částic, PAU se mohou rychle uvolnit z částic uložených v alveolární oblasti plic a difundovat do krevního řečiště (21).

PAU a jejich metabolity narušují syntézy nebo metabolismus endogenních látek endotelu aorty, koronárních tepen a komor (24) a tím mohou přispívat k patogenezi kardiovaskulárních onemocnění prostřednictvím několika mechanismů, včetně kardiotoxicity a účinků na vývoj kardiovaskulárního systému (24,25). Expozice PAU může vyvolat také srdeční hypertrofii. Předpokládá se, že PAU, jako je BaP, zhoršují aterosklerózu prostřednictvím zvýšeného oxidačního stresu (26). Oxidační stres může také vést ke změně cirkulujících lipidů. Zvýšení hladiny triglyceridů a lipoproteinů o nízké hustotě v séru jsou považovány za primární příčinné faktory rozvoje aterosklerózy. Tyto proaterogenní molekuly difundují do subendoteliálního prostoru a způsobují další cévní dysfunkci (27).

Údaje z in vitro studií na lidských endoteliálních buňkách ukazují, že BaP a patrně i další PAU mohou vést k dysfunkci endotelu, který má typicky zvýšenou adhezi způsobenou přítomností buněčných adhezivních molekul (28). Zvýšená adhezivita endotelu je zásadní iniciační událostí u mnoha kardiovaskulárních nemocí, protože tyto změny vedou k zadržování makrofágů a monocytů v subendoteliálním prostoru. Endoteliální dysfunkce je

také charakterizována narušením kalciové homeostázy (29, 30) a zvýšenou expresí prozánětlivých markerů (31)

Klíčovou roli v rozvoji aterosklerózy hraje tvorba tzv. pěnových buněk, které vznikají v subendoteliálních lézích z makrofágů a buněk hladké svaloviny cév akumulací lipidových kapének. V pokusech in vitro bylo zjištěno, že částice vzniklé spalováním mohou zvýšit tvorbu těchto buněk nabitých lipidy z makrofágů (32). Ačkoli tvorbu pěnových buněk způsobenou působením částic pravděpodobně spouští několik složek, zdá se, že PAU představují možné kandidáty.

Několik studií na pokusných zvířatech ukazuje, že expozice plodu PAU v děloze vede k poruchám kardiovaskulárního vývoje. Byla zaznamenána srdeční hypertrofie, abnormální vaskulární struktura v mnoha orgánech a změněný krevní tlak (33).

Řada studií našla asociaci mezi zvýšenými hladinami metabolitů PAU v moči a zvýšením biomarkerů oxidačního stresu (34), prozánětlivými cytokiny nebo zvýšeným sérovým C-reaktivním proteinem (CRP) což naznačuje zánět (35).

Krevní tlak je další z ukazatelů ovlivnění kardiovaskulárního ústrojí, který byl studován v některých epidemiologických studiích. Zvýšená expozice PAU je typická pro koksovny, kde byla v několika studiích nalezena u pracovníků hypertenze a abnormální elektrokardiografie (36–38). Asociace expozice PAU s vysokým krevním tlakem byla pozorována i v případě expozice z životního prostředí. V populaci starších lidí byly oxy-PAU chrysen-5,6-dion a B[a]P-3,6-dion významně spojeny se zvýšeným systolickým krevním tlakem a pulzním tlakem (39). PAU byly také spojeny s hypertenzí ve studii u relativně mladých jedinců, většinou žen (40). V některých studiích ale byly výsledky opačné a spojitost mezi PAU a hypertenzí nebyla prokázána (41, 42).

Výsledky získané v epidemiologických studiích i ve studiích na zvířatech a pokusech in vitro silně naznačují, že expozice částicím PM_{2,5} ze spalování zvyšuje riziko kardiovaskulárních onemocnění a že se na tomto efektu podílí organické sloučeniny vázané na tyto částice. Existují dílčí důkazy, že PAU by mohly k tomuto efektu významně přispívat. Ze samotných epidemiologických údajů je však obtížné rozlišit mezi dopadem PAU pocházejících z ovzduší a PAU z jiných zdrojů na výsledné účinky na zdraví související s KVO. Většina studií o účincích PAU se soustřeďuje na expozice BaP, ale několik studií, které zahrnovaly více zástupců PAU, naznačuje, že i méně karcinogenní PAU mohou ovlivnit kardiovaskulární systém, což by mohlo být významné, vzhledem k tomu, že se vyskytují v ovzduší ve vyšších koncentracích než BaP (12). Kolem mechanismů působení, podílu jednotlivých PAU a vztahu koncentrace odpověď existují nejasnosti. Současná úroveň poznání proto neumožňuje vyhodnocovat vliv PAU na KVO.

- Vývojová toxicita

Předmětem zkoumání z hlediska vývojové toxicity je zejména vliv na vývoj nervového systému a následné ovlivnění funkcí. Ve studiích na pokusných zvířatech (hlodavcích) byly

zkoumány účinky expozice B[a]P během březosti nebo raného věku. Mezi hlášené účinky vývojové toxicity patří změny v přežití embryí nebo plodů, hmotnosti mláďat, krevního tlaku, plodnosti, hmotnosti a histologie reprodukčních orgánů a funkce nervového systému včetně kognitivních funkcí; ovlivnění neuromuskulárních funkcí, koordinace a senzomotorického vývoje, změny chování a elektrofyziologické změny na úrovni nervových buněk (43).

Vývojovou neurotoxicitu zkoumala řada epidemiologických studií. Sledovaly jak kognitivní vývoj (jako je inteligenční kvocient (IQ) nebo vývojový kvocient), tak behaviorální vývoj a obtíže s chováním. Výsledky jsou podobné těm, které byly získány v pokusech na zvířatech. Několik studií se zaměřilo na fyziologii mozku nebo biochemii. Lidské studie prenatální expozice PAU v životním prostředí (stanovené osobním monitorováním ovzduší měřením hladin aduktu B[a]P-DNA v pupečnickové krvi) uváděly účinky na vývoj nervového systému včetně zhoršené kognitivní schopnosti, zhoršené neuromuskulární funkce a zvýšeného pozornosti a úzkostného / depresivního chování po prenatální expozici. Řada publikovaných prací vychází z dat studie Centra pro dětské zdraví a životní prostředí (CCCEH) Kolumbijské University v New Yorku, kde sledovali kohortu dětí od narození a zjistili, že prenatální expozice PAU z ovzduší byla spojena s vývojovým zpožděním ve věku 3 let (44), sníženým IQ dítěte ve věku 5 let (45) a problémy s chováním ve věku 7 let (46, 47). K podobným závěrům dospěli autoři studie provedené v Polsku, kde bylo zjištěno, že expozice PAU je spojena s nepříznivými účinky na neverbální uvažování ve věku 5 let (48), na IQ a na problémy s myšlením a chováním (49). V několika studiích zaměřených na morfologii mozku bylo zjištěno, že expozice PAU byla spojena se změnami ve stavbě mozku, jako je snížený povrch bílé hmoty hemisféry. V další studii byl popsán zmenšený objem nucleum caudatum, což je součást bazálních ganglií, které regulují aktivitu motorické kůry, mají významnou roli v procesech paměti a podílí se na učení se pohybovým vzorcům. (50)

Problémem je, že v řadě studií není provedeno statistické vyhodnocení zohledňující možné spolupůsobení dalších znečišťujících látek, jejichž účinky na nervovou soustavu jsou v současnosti studovány (PM, ozón, oxidy dusíku), což vede k omezené kvalitě důkazů z hlediska kauzality. V toxikologické review vydané 2017 US EPA (43) se konstatuje, že existují pouze omezené údaje o potenciálních způsobech působení BaP na vývoj nervové soustavy. Mezi možné mechanismy účinku patří genotoxicita, mutagenita nebo změněná buněčná signalizace prostřednictvím AhR, cytotoxicita a oxidační stres. EPA také zaznamenala omezenou experimentální podporu pro mechanismus zahrnující změněnou neurotransmisi v centrálním nervovém systému. Ačkoliv tedy existující důkazy (omezené) naznačují spojitost mezi prenatální a časnou expozicí PAU z ovzduší a účinky na kognitivní nebo behaviorální funkce u dětí, není jasné, do jaké míry jsou PAU pro tento efekt kauzálními činiteli.

PAU vykazují také reprodukční toxicitu. Je popisováno ovlivnění vývoje spermií u mužů, souvislost s potraty a úspěšností resp. neúspěšností umělého oplodnění u žen. Expozice

matky PAU v době těhotenství ovlivňuje porodní váhu a růst plodu a může poškodit imunitní funkce plodu, což následně může vést ke zvýšení vnímavosti k respiračním infekcím.

- **Další vlivy na zdraví**

Expozice PAU způsobuje různá další systémová onemocnění. PAU patří mezi endokrinní disruptory, mohou tedy zasahovat do funkce žláz s vnitřní sekrecí a ovlivňovat tvorbu hormonů. Mechanismy odpovědné za tyto účinky zahrnují specifické signální dráhy, regulační mechanismy (chromatinová/epigenetická regulace, kontrola buněčného cyklu/poškození DNA) a buněčné funkce (apoptóza, autofagie, imunitní reakce/zánět, neurologické reakce, a vývoj/diferenciace).

Mezi možné vlivy popsané v nedávné době patří také zjištění, že expozice PAU souvisí s křehkostí u seniorů, včetně slabé svalové síly a změněného kostního obratu. Studie na obecné dospělé populaci ve Spojených státech přinesla závěry, že expozice polycyklickým aromatickým uhlovodíkům je spojena se zvýšenou kostní resorpcí (57, 58). Expozice PAU může mít nepříznivý vliv na proces stárnutí také tím, že urychluje stárnutí metylace DNA (59).

2.1.2. Karcinogenní účinky PAU

Jednou z nejzávažnějších vlastností PAU je, kromě toxicity, mutagenita a karcinogenita. Přes své strukturální podobnosti se jednotlivé PAU velmi liší ve své karcinogenní potenci, přičemž jsou Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC) klasifikovány jako možné (skupina 2B), pravděpodobné (skupina 2A) nebo prokázané lidské (skupina 1) karcinogeny (51).

Obecně platí, že větší PAU (s více než čtyřmi kruhy) mají vyšší karcinogenní potenciál než menší PAU. BaP je v současnosti jedinou PAU, která je klasifikována jako lidský karcinogen (skupina 1). Nejúčinnějším genotoxickým a karcinogenním PAU je podle současných poznatků dibenzo[*a*]pyren (skupina 2A), který je na základě studií *in vivo* považován za až 100krát účinnější než B[*a*]P. Přítomnost a hladiny benzopyrenů, jsou ale méně prozkoumány, což by mohlo mít dopad na odhad rizika PAU z ovzduší.

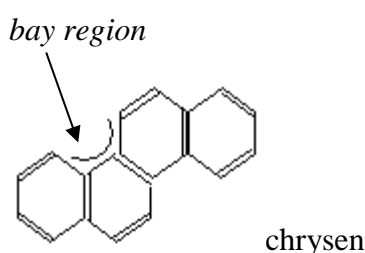
- **Mechanismus působení**

Biologická aktivita PAU závisí na jejich charakteristických vlastnostech. PAU jsou vysoce lipofilní sloučeniny s nízkou chemickou reaktivitou, které musí být metabolicky aktivované na reaktivní elektrofilní meziprodukty, které se mohou následně navázat na nukleofilní cíle v molekule DNA, RNA a proteinech. Vazba PAU na DNA vedoucí k tvorbě stabilních aduktů DNA je považována za hlavní mechanismus mutagenese a karcinogeneze indukované PAU. Bioaktivace probíhá prostřednictvím řady enzymaticky katalyzovaných reakcí, na kterých se primárně podílí rodina enzymů cytochromu P450 (CYP), zejména CYP1A1, 1A2 a 1B1. Mnohé PAU jsou ligandy pro arylový uhlovodíkový receptor (AhR), který má různé role zapojené do metabolismu, včetně regulace různých bioaktivačních a detoxikačních enzymů. Ovlivňuje expresi genů jakým je například cytochrom P450A1

a jiné biotransformační enzymy. Díky této vlastnosti dochází následně k transkripční upregulaci genů podílejících se na biotransformaci, růstu a diferenciaci buněk. Nevhodná aktivace Ah receptorů PAU indukují zvýšenou proliferaci a inhibují diferenciaci a promoci tumoru. Další metabolickou cestou je mechanismus aldoketoreduktázy, který aktivuje PAU na redoxně aktivní deriváty ortho-chinonu (o-chinonu), které mohou mít také mutagenní a tumorigenní vlastnosti.

PAU mají inhibiční účinek na mezibuněčnou komunikaci (gap junction). Větší inhibiční účinek vykazují ty PAU, které obsahují ve své struktuře tzv. „bay region“ (např. chrysen, benzo[*a*]pyren).

Obrázek 1 : „Bay region“ chrysenu



Aby mohly PAU působit jako mutageny či karcinogeny, musí splňovat některé strukturní požadavky. PAU skládající se pouze ze sloučených benzoových cyklů („alternant“) musí mít nejméně 4 cykly a obsahovat „bay“ nebo „fjord“ region. Fjord region DE jsou obecně méně chemicky reaktivní než bay region DE, ale v mnoha případech vykazují větší mutagenní a karcinogenní aktivitu. Fjord region obsahuje například dibenzo[*a,e*]pyren, benzo[*c*]fenantren. Schopnost PAU chovat se jako promotor velmi zvyšuje jejich karcinogenní potenciál.

- **Role zdrojů v karcinogenitě PAU**

Vzhledem k tomu, že vzduchem přenášené PAU jsou komplexní směsí s příspěvkem z různých zdrojů, je obtížné pomocí epidemiologických studií stanovit relativní příspěvek různých zdrojů ke karcinogenitě PAU ve vzduchu. Níže následuje shrnutí toho, co bylo pozorováno v experimentálních experimentech na zvířatech a in vitro srovnávacích účinky vzorků PM nebo extraktů organických rozpouštědel ze vzorků PM z různých zdrojů emisí ve stejném systému.

Výsledky studií založených na testech mutagenity s použitím různých kmenů *Salmonella* naznačují, že výfukové plyny z bionafty mohou být více mutagenní než výfukové plyny z nafty na bázi fosilních paliv, ale že mutagenní síla nekoreluje s obsahem PAU (76, 77). Opakovaná inhalační expozice krys výfukovým plynům nafty z fosilních paliv nebo biopaliva doplněného řepkovým semenem vyvolala podobné úrovně genotoxického stresu, ale nafta z fosilních paliv vyvolala vyšší úrovně objemných aduktů v plicní tkáni (78). Podobně srovnání genotoxického potenciálu v lidských plicních buňkách ukázalo, že vzorky nafty a bionafty (organické extrakty a nativní částice výfukových plynů nafty) vyvolaly podobné úrovně poškození DNA (79, 80). Rozdíl mezi výsledky z kmenů *Salmonella* a in

vivo a in vitro experimentů na savcích by mohl být způsoben rozdíly v použitých testovacích systémech nebo vzorcích.

Srovnání částic dřevěného kouře s PM z okolního ovzduší, nafty a benzínu ukázalo, že první z nich mají obecně vyšší obsah PAU a méně rozpustné kovy (81, 82). Hodnocení genotoxicity in vitro ukázalo, že extrakty částic dřevěného kouře způsobují vyšší úroveň tvorby reaktivních forem kyslíku, zlomů řetězců DNA a 8-oxoguaninu indukovaného reaktivními druhy kyslíku než extrakty z okolního vzduchu v lidských plicních buňkách. Žádná ze studií nenalezla korelaci mezi obsahem PAU a toxikologickými koncovými body, což naznačuje, že genotoxicita byla řízena jinými extrahovatelnými organickými sloučeninami než PAU (81, 82). Ve shodě, řada studií ukázala, že hlavní část mutagenity PM extraktů získaných z okolního vzduchu a výfukových plynů naftových a benzínových motorů se nachází v polárních nebo mírně polárních frakcích (83-86).

Závěrem lze říci, že role zdrojů v karcinogenitě PAU v ovzduší není stále dobře stanovena. U všech zdrojů se však zdá, že neexistuje žádná přímá korelace mezi obsahem PAU a genotoxickou nebo mutagenní potencií a že hlavní část mutagenity tvoří polárnější frakce PAU ve vzduchu (obsahující oxy- a nitro-PAU). Tyto výsledky jsou založeny na studiích na zvířatech a in vitro a k jejich potvrzení je zapotřebí větší počet epidemiologických a mechanistických studií.

2.1.3. PAU a různé typy rakoviny

V posledních dvou desetiletích bylo v běžné populaci provedeno pouze několik epidemiologických studií o rakovině prsu, dětství, děložního čípku a močového měchýře. Obecně platí, že zahrnuté studie hodnotily expozici PAU sběrem dat z monitorovacích stanic, kde byly zkoumány souvislosti s rakovinou za použití buď součtu všech naměřených PAU (zde označovaných jako celkové PAU) nebo BaP jako markeru PAU. Existují důkazy prokazující vztah mezi expozicí PAU v okolním ovzduší, zejména z emisí z dopravy, a zvýšeným rizikem rakoviny prsu. Počet studií zkoumajících tento účinek byl však nízký a kvalita více než poloviny studií byla považována za špatnou z hlediska kauzality a dočasnosti. Řada případových a kontrolních studií zkoumala účinky expozice okolním PAU na výskyt rakoviny u dětí. Cílová populace žila především v městských oblastech, kde expozice PAU pochází převážně z dopravy a průmyslových zdrojů emisí. Byly hlášeny pozitivní souvislosti mezi okolními PAU a každým typem těchto vzácných onemocnění. Údaje spojující PAU z průmyslové a silniční dopravy s rakovinou močového měchýře a děložního čípku byly omezené. Vzhledem k tomu, že byla identifikována pouze jedna studie z 80. let 20. století zkoumající souvislost mezi rakovinou plic a expozicí PAU prostřednictvím okolního vzduchu v běžné populaci, pocházely nálezy rakoviny plic převážně z pracovních metaanalytických studií. Tyto studie ukázaly mírné pozitivní souvislosti mezi expozicí PAU a rakovinou plic. Většina studií nebyla upravena pro matoucí faktory, jako je kouření a společná expozice jiným karcinogenním látkám.

Epidemiologické studie využívající celkové koncentrace PAU k hledání asociace jakéhokoli typu rakoviny s PAU ve venkovním ovzduší neuvažovaly používané přístupy k hodnocení rizika rakoviny z hlediska karcinogenní potence jednotlivých PAU (BaP jako marker, toxické ekvivalenty, hodnocení karcinogenity celé směsi), když byly sloučeniny sečteny. To může vést k nadhodnocení nebo podhodnocení odhadů rizik.

- **Rakovina plic**

Epidemiologické studie zkoumající souvislost mezi rakovinou plic a okolními PAU byly převážně pracovní. Ve skutečnosti existuje pouze jedna studie z roku 1983 (94), která zkoumala souvislost mezi rakovinou plic a expozicí okolnímu B[a]P u běžné populace. Tato ekologická studie neuvádí žádnou souvislost mezi B[a]P a výskytem rakoviny plic v celkové populaci Erie County, New York. Výsledky této studie by však měly být interpretovány obezřetně, s ohledem na to že jde o ekologickou studii, která je určena ke generování hypotéz a nemůže potvrdit příčinnou souvislost, navíc chybí ve zkoumaném vzorku srovnávací populace.

Pracovní studie vztahující se k expozici PAU rakovině plic jsou dobře zdokumentovány v monografii IARC č. 92 (4). Ve většině případů byli pracovníci vystaveni velmi vysokým koncentracím PAU – až 100 mikrogramů na metr krychlový ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) – především inhalací. Jedna metaanalýza zahrnutá do monografické zprávy IARC (95) a tři další metaanalýzy (96 – 98) zachycovaly poznatky ze studií souvisejících s rakovinou plic a pracovní expozicí PAU. Tyto studie ukázaly pozitivní souvislost mezi rakovinou plic a pracovníky vystavenými PAU. Tyto asociace však zůstávají slabé (nízká relativní rizika), což ztěžuje kauzální přiřazení rakoviny plic k PAU. Tento problém je ještě vyšší, protože pracovníci v zaměstnání vystavení PAU jsou také vystaveni velkému počtu dalších karcinogenních nebo potenciálně karcinogenních sloučenin, jako je azbest, výfukové plyny nafty, chrom a nikl. Kromě toho většina jednotlivých studií nekontrolovala kouření. I když výsledky naznačují, že okolní PAU mohou být spojeny s rakovinou plic, nelze tato zjištění extrapolovat na obecnou populaci vystavenou nižším hladinám PAU ve srovnání s pracovníky.

Stručně řečeno, velmi omezený počet epidemiologických studií zkoumal rakovinu plic po expozici PAU v okolním vzduchu. Metaanalýzy pracovní expozice prokázaly pozitivní, ale slabé souvislosti mezi pracovníky vystavenými vysokým hladinám PAU ve srovnání s běžnou populací.

- **Rakovina prsu**

Rakovina prsu může být spojena s expozicí okolním PAU z různých zdrojů (99,118, 123, 134). Pět amerických studií zkoumalo souvislost mezi výskytem karcinomu prsu a celkovými PAU nebo jednotlivými PAU v okolním ovzduší. Z těchto studií dvě studie případ-kontrola zkoumaly souvislost mezi expozicí B[a]P z dopravních zdrojů a rakovinou prsu u premenopauzálních a postmenopauzálních žen. Ve studii Nie et al. (87), asociace byly často pozitivní, ale ne významné, zatímco Mordukhovich et al. (88). Tři ekologické studie

zkoumaly geografické rozdíly mezi městskými/industrializovanými a méně industrializovanými/méně urbanizovanými regiony z hlediska emisí PAU (101–103). Výsledky všech tří studií ukázaly pozitivní a významné souvislosti mezi celkovými nebo jednotlivými PAU a výskytem rakoviny prsu ve vysoce znečištěných oblastech (městské/industrializované).

Například Large a Wei (102) uvedli, že karcinogenní PAU, včetně BaP, dibenzo[ah]anthracenu a benzo[b]fluoranthenu, zvýšily riziko výskytu rakoviny prsu ve vysoce urbanizovaných, industrializovaných a znečištěných severních Spojených státech. - východní regiony ve srovnání s jihovýchodními regiony, které byly méně industrializované a méně urbanizované, a tudíž méně znečištěné. Důležitým omezením těchto studií je, že nezohlednily expozici v raném věku, včetně in utero a dětství, které jsou známé jako citlivá vývojová období. Ačkoli omezená literatura podporuje souvislost mezi expozicí PAU v okolním ovzduší a zvýšeným výskytem rakoviny prsu, tři z pěti studií by měly být interpretovány opatrně jako výsledek jejich ekologického plánu studie. Ve skutečnosti při použití agregovaných dat, kde je studijním vzorkem celá populace v regionu, jsou zjištění náchylná k ekologickým omylům. V důsledku toho výsledky nemusí nutně platit na individuální úrovni.

Celkově omezené epidemiologické studie prokázaly pozitivní souvislosti mezi expozicí PAU a rakovinou prsu.

- **Nádory u dětí**

I když je o etiologii dětských nádorových onemocnění málo známo, významný podíl bývá připisován genetickým faktorům (104). Rizikové faktory životního prostředí, jako je znečištění okolního ovzduší, mohou přispívat k riziku rozvoje takového onemocnění.

Bylo nalezeno sedm amerických studií případů a kontrol, které zkoumaly vztah mezi expozicí PAU a dětskými rakovinami. Ve většině případů pocházejí PAU v těchto studiích ze silniční dopravy, přetížených vozovek ve velkých městských oblastech a v jejich okolí. Tyto studie obecně ukázaly pozitivní souvislosti mezi expozicí PAU během prenatálního nebo postnatálního období a rozvojem různých typů rakoviny u dětí, včetně neuroblastomu (89), leukémie (90,93), nefroblastomu (105), retinoblastomu (91) a dalších mozk. nádorů (92) Ve studii případů a kontrol v Kalifornii zjištěno, že prenatální expozice polycyklickým aromatickým uhlovodíkům je spojena s výskytem meduloblastomu (122). Existují však určitá omezení, pokud jde o experimentální design těchto studií. Ve skutečnosti žádná ze studií nebyla upravena pro kouření rodičů a pouze dvě ze šesti studií byly upraveny pro expozici jiným látkám toxickým ve vzduchu nebo prováděly modelování spolupolutantů (93). Navíc je třeba poznamenat, že dosud byla provedena pouze jedna epidemiologická studie na každý typ dětské rakoviny (nebo dvě v případě leukémie). K vyhodnocení role PAU z venkovního ovzduší při rozvoji různých dětských rakovin je proto zapotřebí více informací.

- **Jiné rakoviny**

Existují omezené informace o souvislosti mezi expozicí PAU v okolním ovzduší a jinými druhy rakoviny. Ačkoli několik metaanalýz zaznamenalo zvýšené riziko rakoviny močového měchýře, převážně v zařízeních na výrobu hliníku a slévárnách železa a oceli (95-97, 106), pouze jedna studie zkoumala rakovinu močového měchýře v obecné populaci. Tato studie případů a kontrol (1219 případů a 1271 kontrol) provedená ve Španělsku zjistila nevýznamnou, ale pozitivní souvislost mezi rakovinou močového měchýře a blízkostí průmyslových míst emitujících PAU. Studie však nedokázala kontrolovat jiné karcinogenní látky toxické pro ovzduší (107) Průřezová studie ve Spojených státech amerických zkoumala souvislost mezi vystavením venkovních obytných prostor okolním PAU souvisejícím s dopravou a rozvojem rakoviny děložního čípku u městské populace. Vysoce exponované ženy měly zvýšenou prevalenci cervikální dysplazie po úpravě podle věku, rasy/etnické příslušnosti, vzdělání, kouření a stavu lidského papilomaviru (108).

2.1.4. Přístupy k hodnocení karcinogenních účinků PAU

- Dávka – odezva

Je známo, že některé PAU jsou úplné karcinogeny, tzn. působí jak v iniciační tak v promoční fázi. Tvar křivky dávka–odezva u PAU způsobujících rakovinu u zvířat je většinou nelineární, při vysokých dávkách má stoupající charakter. To se shoduje s myšlenkou, že promoce je nestochastická a má nadprahovou křivku dávka–odezva ve tvaru písmene S. To je v kontrastu s čistě genotoxickými karcinomy, u nichž je pravděpodobnost vzniku, při nízkých dávkách genotoxických látek, lineárně závislá na dávce bez prahové hodnoty. Lze tedy říci, že pravděpodobnost iniciace má lineární bezprahovou křivku a pravděpodobnost a intenzita promoce má pravděpodobnostní kumulativní funkci tvaru písmene S.

Lipofilní PAU, které projdou slizniční výstelkou, jsou sice dobře rozpustné v membráně bronchiálního epitelu, ale na druhé straně jsou jen pozvolna transportovány do kapilární krve. Tento proces závisí na rozpustnosti PAU v tucích; např. benzo[*a*]pyren, který obsahuje 5 benzoových cyklů, se v membráně rozpouští lépe než v buněčné tekutině ve srovnání s pyrenem, který se skládá ze 4 cyklů. V důsledku je benzo[*a*]pyren uvolňován do cirkulace pomaleji než pyren. Bronchiální epitel proto dosahuje vysokých koncentrací PAU i při nízké environmentální expozici. Při vysokých koncentracích PAU v ovzduší je metabolická kapacita epitelu dýchacích cest saturována. Játra mají ale velkou metabolickou kapacitu, hlavní frakce PAU (jež je absorbována do krve) tudíž nenasytí jaterní kapacitu ani při vysokých environmentálních koncentracích PAU. Pokud dávka při hodnocení rizika, které je založeno na pokusech na zvířatech, přesahuje kapacitu plic, může dojít k podcenění rizika rakoviny.

- Kvantitativní odhad rizika

Hodnocení karcinogenního rizika pro jednotlivé PAU a jejich směsi je založeno především na pokusech s laboratorními zvířaty a na epidemiologických studiích prováděných

v pracovním prostředí. Je pravděpodobné, že jednotlivé PAU přispívají k vzniku rakoviny více mechanismy, často pak v interakci s dalšími vrozenými a získanými faktory. Odhad rizika při nízké hladině expozice by měl být, při současném stupni poznání, založen na předpokladu linearitě vztahu dávka – odezva. A to navzdory faktu, že odpovědi na vysoké dávky jsou v pokusech se zvířaty nelineární. Kvantitativní odhady rizika využívají ke zhodnocení kvantitativního rizika PAU, s benzo[*a*]pyrenem jako indikátorem, převážně zhodnocení zvýšeného rizika rakoviny plic u pracovníků koksárenských pecí. Z tohoto vztahu jsou také odvozeny závěry v publikaci WHO Air Quality Guidelines for Europe.

2.1.5. Hodnocení směsi PAU

Chronická expozice směsím PAU v ovzduší má za následek řadu různých, více či méně dobře popsáných a prokázaných, karcinogenních účinků. Hodnocení rizika rakoviny u PAU může zahrnovat tři přístupy:

- BaP jako zástupný marker pro komplexní směsi;
 - použití ekvivalentních faktorů účinnosti založených na složkách s použitím BaP jako indexové sloučeniny; nebo
 - komparativní přístup hodnocení celé směsi.
- **Použití BaP jako markeru pro komplexní směsi**

Vhodnost použití BaP jako indikátoru je stále zpochybňována, neboť je založena na předpokladu, že poměr BaP a součtu karcinogenních PAU v ovzduší je stále stejný. Mimoto je jeho koncentrace v ovzduší ve srovnání s jinými PAU relativně nízká. PAU mohou působit jak genotoxicky, tak epigeneticky (negenotoxicky). Za úplné karcinogeny jsou považovány ty PAU, které se podílejí na iniciaci i promoci. Mohou působit v různých stupních karcinogeneze.

To, že tento předpoklad nemusí platit, bylo pozorováno ve studii během 18letého období od roku 1974 do roku 1992 v japonském Sapporu (109), kde se okolní BaP snížil o 75–80 %, zatímco nepřímo působící mutagenní aktivity poklesly pouze o 44–50 % a přímo působící mutagenní aktivity se významně nezměnily. Tato studie naznačila, že samotné použití BaP jako indikátoru nemusí být vždy vhodné a pravděpodobně by mohlo podceňovat riziko. Kromě toho se velké množství polárnějších PAU (jako jsou nitro- a oxy-PAU) uvolňuje ze stejných zdrojů jako PAU nebo se mohou tvořit jako produkty rozkladu ve vzduchu, což může rovněž přispívat k toxikologické aktivitě (86). Hlavním karcinogenním způsobem působení BaP je indukce poškození DNA vedoucí k mutagenезi. Bylo však odhadnuto, že velký počet PAU přispívá ke karcinogennímu procesu prostřednictvím negenotoxických způsobů účinku, včetně zvýšené buněčné proliferace a zánětu, což by mohlo zesílit účinky genotoxických PAU (112). V důsledku toho je přisouzení pozorovaných účinků pouze BaP komplikované, protože k expozici dochází ve spojení s jinými PAU. Kromě toho použití

BaP jako náhradního markeru nebo indexové sloučeniny také předpokládá, že neexistují žádné interakce mezi PAU vedoucí k antagonistickým nebo synergickým toxickým účinkům. Toto je předpoklad, který může vést k nesprávnému odhadu rizik a zaručuje posun směrem k hodnocení účinků celé směsi a expozice (113,114). Přístup k použití BaP jako náhradního markeru je součástí stávajícího definování imisních limitů pro venkovní ovzduší k řízení kvality ovzduší. Vychází z doporučení WHO AQG, kde je uvedeno jednotkové riziko rakoviny plic pro směsi PAU ($8,7 \times 10^{-5}$ na ng BaP/m³). Tento přístup postrádá flexibilitu, aby se mohl přizpůsobit vysoce účinným karcinogenním PAU, jako jsou dibenzopyreny, které jsou objevovány při vývoji technologie k detekci vyššího počtu PAU a na nižších úrovních (118).

- **Použití faktorů účinnosti založených na složkách s použitím B[a]P jako indexové sloučeniny**

Ve vztahu k druhému přístupu – použití faktorů potence založených na složkách s použitím BaP jako indexové sloučeniny – EPA Spojených států v současné době vyhodnocuje použití faktorů relativní potence (RPF) nebo také toxických ekvivalentních faktorů (TEF) jako přístupu k hodnocení rizik rakoviny pro expozice směsím PAU, včetně PAU ve vzduchu (119). V tomto přístupu jsou různým složkám směsí PAU přiřazeny faktory vzhledem k BaP kde účinnost BaP = 1. Z těchto faktorů jsou odvozeny odhady rizika rakoviny pro směsi PAU. Odhady rizik se stanoví výpočtem a sečtením ekvivalentních hodnot BaP pro různé PAU ve směsích.

Pro většinu PAU však existuje velký rozsah TEF, což může vést k rozdílům v odhadech rizik založených na různých měřících. Například publikované hodnoty TEF pro dibenzo[ah]anthracen se pohybují mezi 0,1 a 10. Od doby, kdy byl stanoven seznam priorit EPA, bylo ve venkovním ovzduší identifikováno mnoho vysoce účinných PAU, včetně dibenzopyrenů a benzo[j]aceanthrylenu. Přestože tedy těmto PAU byly přiřazeny (více méně jisté) hodnoty TEF, jsou zřídka zahrnuty do programů monitorování ovzduší nebo hodnocení zdravotních rizik, protože nebyly identifikovány jako prioritní PAU. Mnohé studie skutečně prokázaly, že ačkoli jsou tyto PAU ve vzduchu ve srovnání s BaP přítomny v relativně nízkých hladinách, významně přispívají k riziku rakoviny způsobenému znečištěním ovzduší (120, 121, 124). Problémem je, že použití TEF vyžaduje společný způsob působení a předpokládá aditivitu ve výsledném toxikologickém účinku. Mechanismy působení, které se pravděpodobně vyskytují u různých PAU, však naznačují, že tomu tak není, a jsou studie prokazující neaditivní karcinogenní účinky (více než i méně než) vyplývající z interakcí, které to potvrzují (112, 125). Nedostatek koherence mezi různými stupnicemi a předpoklad aditivity jsou hlavními omezeními pro hodnocení rizik na základě ekvivalentních faktorů účinnosti.

- **Posouzení celé směsi PAU odhadem účinnosti**

Třetí přístup – přístup srovnávající účinnosti celé směsi – posuzuje celou směs PAU odhadem účinnosti, aniž by bylo nutné identifikovat nebo kvantifikovat jednotlivé sloučeniny PAU. Tento přístup se liší od ostatních v tom, že se pokouší vzít v úvahu všechny

sloučeniny ve směsi, jako je znečištění ovzduší (tj. PAU a další). Použitím zdrojově specifické směsi PAU, která byla důkladně charakterizována v epidemiologických a biologických studiích jako reference, je druhá dostatečně podobná směs PAU hodnocena na základě její srovnávací účinnosti v biologickém testu. Tento přístup byl navržen pro různé komplexní směsi PAU (127, 128), ale zatím není jeho použití v praxi zavedeno. Aby bylo možné použít tento přístup, musí být stanovena karcinogenita zdrojových směsí, které přispívají k znečištění prostředí. Hladiny každé zdrojové směsi je pak nutné odhadnout pro dané prostředí (jako je průmyslové město), protože přispívající zdroje se liší svou karcinogenitou. Bylo by nákladné a nepraktické pokoušet se získat údaje o karcinogenitě u mnoha takových směsí PAU pomocí tradičního testování *in vivo*. Jak Evropská komise, tak EPA Spojených států však uvedly, že preferovány jsou přístupy k hodnocení rizik založené na hodnocení toxicity celých směsí, protože se přirozeně zabývají interakčními účinky mezi chemikáliemi (114, 119). Tento přístup hodnocení celé směsi by odstranil nejistotu známých neznámých, jako jsou třeba dibenzopyreny.

Chybění ideálního řešení vede ke snaze vyvinout přístup hodnocení, který by zohledňoval možné účinky interakce. To se objevuje v materiálech US EPA (119). Národní toxikologický program Spojených států schválil výzkumný program zaměřený na zvýšení znalostí o komplexní toxicitě směsí PAU (128).

Jednou z variant je přístup směšných faktorů, podobný přístupu srovnávací účinnosti, který se liší od přístupů založených na složkách v tom, že se nespolehá na hodnoty účinnosti specifické pro sloučeninu, ale místo toho porovnává účinky celých směsí na relevantní biologický konečný bod (129). Avšak na rozdíl od přístupu srovnávací účinnosti se přístup směšných faktorů nespolehá na dobře charakterizovanou a dostatečně podobnou referenční směs, ale místo toho na použití dobře charakterizované jednotlivé PAU, jako je BaP. Protože BaP je již zavedeným a dobře prostudovaným markerem pro PAU, byl by vhodný jako referenční sloučenina. Potence vzorků celé směsi by tak byly vyjádřeny jako směšný faktor vzhledem k BaP.

Protože není možné provádět studie na zvířatech pro každou komplexní směs, je zapotřebí vývoj citlivých a relevantních testovacích systémů založených na testech *in vitro*. Potenciál využití aktivace signalizace poškození DNA v lidských kultivovaných buňkách byl nedávno navržen jako marker pro vývoj směšných faktorů na bázi *in vitro* (125, 129, 130). Použitelnost tohoto *in vitro* markeru pro genotoxickou potenci jiných skupin sloučenin podporují i předchozí studie (131, 133). Použití směšných faktorů na bázi *in vitro* pro vzorky PAU z celé směsi vzduchu ve městech při hodnocení rizika rakoviny naznačilo, že 6 % všech případů rakoviny plic ve Stockholmu je způsobeno vzduchem přenášenými PAU, což je v souladu s odhadem výskytu rakoviny plic v důsledku znečištění venkovního ovzduší v Evropě. Autoři dospěli k závěru, že přístup založený na *in vitro* pro stanovení směšných faktorů by mohl být novou metodou pro testování a hodnocení vzorků celé směsi vzduchem přenášených PAU za účelem zlepšení hodnocení zdravotních rizik.

2.2. Nitro-PAU

PAU mohou také existovat v substituované formě, například nitro- a oxy-PAU. Nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky (nitro-PAU) jsou deriváty PAU s alespoň jednou funkční nitroskupinou ($-NO_2$) na aromatickém kruhu. Jsou to všudypřítomné látky znečišťující ovzduší, kterým je věnována zvýšená pozornost kvůli jejich biologické aktivitě. Nitro-PAU se v životním prostředí vyskytují jako směs spolu s mateřskými PAU a stovkami dalších organických sloučenin. Nitro-PAU jsou obvykle přítomny v menším množství (o 2 řády) než PAU.

Nitro-PAU jsou emitovány ze stejných zdrojů jako PAU, kromě toho mohou vznikat procesy atmosférické transformace - chemickou, fotochemickou nebo biologickou oxidací PAU. Odlišné antropogenní zdrojové intenzity nitro-PAU a vznik sekundárními reakcemi v ovzduší je důvodem, proč nelze koncentrace nitro-PAU snadno předpovědět na základě intenzity antropogenní činnosti nebo je snadno vztáhnout ke koncentracím PAU. Osud a transport nitro-PAU není stejný jako u příbuzných PAU kvůli jejich vyšší molekulové hmotnosti a značně odlišným sorpčním mechanismům. Proto jsou nutné specifické poznatky o nitro-PAU. (60).

Studie poměrů specifických pro jednotlivé zdroje (2-nitrofluoranthén/1-nitropyren) jasně ukázala, že primární zdroje nitro-PAU ovlivňují městské a příměstské lokality, zatímco produkce sekundárních nitro-PAU reakcemi v plynné fázi převažovala na venkovských lokalitách. Studie zdrojů nitro-PAU a oxy-PAU naznačila, že významným zdrojem těchto sloučenin jsou benzínové motory, zatímco dominantním zdrojem 1-nitropyrenu, 2-nitrofluorenu, 6-nitrochrysenu a benz[*a*]anthracen-7,12-dionu se zdají být vozidla s diesellovými motory. A konečně 9,10-antrachinon má dvojí původ: primární emise z diesellových motorů a fotochemické procesy. Tvorba 9,10-antrachinonu z ozonizace antracenu byla prokázána ve venkovské lokalitě (61).

Bylo zjištěno, že distribuce izomerů nitro-PAU ve vzorcích venkovního ovzduší je významně odlišná od distribuce v přímých emisích ze spalování. 2-nitrofluoranthén a 2-nitropyren jsou všudypřítomné složky pevných částic, i když nejsou přímo emitovány z většiny zdrojů spalování. Profil nitro-PAU nebo relativní množství určitých "markerových" PAU je ukazatelem zdroje tvorby nitro-PAU. Nejhojnější nitroisomery pyrenu, fluorenu a fluoranthenu pozorované ve výfukových plynech diesellových motorů jsou 1-nitropyren, 2-nitrofluoren a 3-nitrofluoranthén, zatímco izomery vzniklé reakcí hydroxylových radikálů těchto PAU jsou 2-nitropyren, 3-nitrofluoren a 2-nitrofluoranthén (63).

Z celosvětových průzkumů mononitropyrenů a fluoranthenu z řady městských, příměstských a odlehlých oblastí lze vidět, že koncentrace 2-nitrofluoranthenu (tvorba v atmosféře) v suspendovaných částicích několikanásobně převyšují koncentrace 1-nitropyrenu (ze spalování) v téměř všech studiích. 1-nitropyren (1-NP), jeden z nejrozšířenějších nitropolycyklických aromatických uhlovodíků, je specifickým markerem výfukových plynů vznětových motorů. Sezónní studie na vybraných nitro-PAU ukazují, že koncentrace

1-nitropyrenu a dinitropyrenu (ze spalovacích zdrojů) v suspendovaných částicích venkovního ovzduší jsou obvykle vyšší v zimě než v ostatních měsících.

Naproti tomu ve většině studií jsou hladiny 2-nitrofluoranthenu a 2-nitropyrenu (atmosférická přeměna) v zimních měsících nižší než v teplejších obdobích. Hladiny jednotlivých nitro-PAU ve venkovním ovzduší se značně liší v závislosti na místě měření, ročním období a denní době. Obecně se však hladiny celkových naměřených nitro-PAU pohybují od pikogramů po několik nanogramů na metr krychlový.

Nitro-PAU byly nalezeny v některých vzorcích potravin. Hladiny obvykle nepřesahují 5 µg/kg, s výjimkou koření, uzených potravin, čaje (zejména čaje Mate) a arašídů. Nitro-PAU v zelenině a ovoci jsou pravděpodobně způsobeny znečištěním atmosféry. Průměrný denní příjem nitro-PAU je ve srovnání s PAU zanedbatelný. Úrovně expozice nitro-PAU se liší v závislosti na zaměstnání a nejvyšší zjištěné úrovně byly v podzemní těžbě (průměr 2,5 ng/m³; maximálně 42 ng/m³).

1-nitropyren (1-NP), jeden z nejrozšířenějších nitro-polycyklických aromatických uhlovodíků (nitro-PAU) je pravděpodobným karcinogenem. Makrofágy se podílejí na imunitní obraně proti invazivním patogenům při infekčních onemocněních srdce, plic a ledvin. Žádné důkazy však nenaznačují, že by 1-NP indukoval apoptózu u makrofágů. V této studii bylo zjištěno, že 1-NP vyvolává v závislosti na koncentraci změny různých buněčných funkcí RAW264.7 makrofágů, včetně snížení životaschopnosti buněk, vzniku apoptózy, mitochondriální dysfunkce, jaderné translokace faktoru indukujícího apoptózu (AIF), vzniku intracelulárních ROS, aktivace dráhy AMPK/Nrf-2/HO-1 a změn exprese proteinů rodiny BCL-2; Tyto výsledky naznačují, že 1-NP vyvolal apoptózu v makrofázích prostřednictvím jaderné translokace AIF a tvorby ROS v důsledku mitochondriální dysfunkce a vyčerpání AOE v důsledku aktivace dráhy AMPK/Nrf-2/HO-1(62).

- **Vlivy na zdraví**

Toxické účinky některých nitro-PAU jsou výraznější než u PAU. Některé nitro-PAU jsou Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny klasifikovány jako možné nebo pravděpodobné lidské karcinogeny (63). Neexistují žádné zprávy o účincích jednotlivých nitro-PAU na člověka. Jak by se dalo očekávat, protože nitro-PAU se vyskytují ve složitých směsích v atmosféře a výfukových plynech, není možné objasnit přesný podíl nitro-PAU na nepříznivých zdravotních důsledcích expozice znečištěné atmosféře a výfukovým plynům.

V současné době se provádějí výzkumy účinků nitro-PAU na lidské zdraví pomocí biomarkerů expozice. Několik zpráv popsalo vývoj metod a poskytlo údaje o hodnocení 1-nitropyrenu jako biomarkeru pro pracovní expozici výfukovým plynům z diesellových motorů. Metabolity PAU a nitro-PAU v moči byly stanoveny v moči mechaniků pomocí enzymové imunoanalýzy (ELISA).

Tabulka 1 - Seznam koncentračních rozsahů důležitých nitro-PAHs ve vnějším ovzduší			
Substance	Concentration range ng/m ³		
	Traffic	Urban	Rural/remote
1-Nitronaphthalene	0,07 – 0,2 (n, o)	0,2 (h, n)	0,01 – 0,2 (h, n)
2-Nitronaphthalene	0,03 – 0,06 (n, o)	0,12 (h, n)	0,01 – 0,1 (h, n)
2-Nitrofluorene	0,001 – 0,021 (l, n)	0,05 – 0,4 (d, g, h, n)	0,001 – 0,005 (h, n)
9-Nitroanthracene	0,002 – 0,01 (n, o)	0,03 – 0,2 (a, c, d, g, h, j, l, n)	0,002 – 0,03 (g, h, n)
3-Nitrophenanthrene	0,007 – 0,1 (n, o)	0,001 – 0,02 (l, o)	0,0007 – 0,001 (o)
9-Nitrophenanthrene	0,005 – 0,05 (l, n)	0,01 – 0,3 (h, i, n)	0,0002 – 0,03 (h, n)
2-Nitrofluoranthene	0,03 – 0,2 (l, o)	0,03 – 2 (a, e, f, g, j, l, m, n)	0,02 – 0,03 (e, k, n)
3-Nitrofluoranthene	0,018 (i)	0,003 – 0,1 (d, j, l)	0,01 (e)
1-Nitropyrene	0,02 – 0,2 (l, o)	0,01 – 2 (a, b, e, f, g, h, j, l, n)	0,0006 – 0,01 (e, h, n, o)
2-Nitropyrene	0,007 – 0,2 (n, o)	0,01 – 0,04 (a, h, j, n)	0,001 – 0,08 (e, h, k, n)
4-Nitropyrene	0,02 – 0,03 (o)	0,001 (h, n)	0,0006 (h, n)
1,3-Dinitropyrene	0,0009 – 0,02 (n, o)	0,01 – 0,03 (d, h, n)	0,004 (n)
1,6-Dinitropyrene	up to 0,0002 (o)	0,01 (d, h, n)	0,0001 – 0,004 (n)
7-Nitrobenzo[<i>a</i>]anthracene	0,005 – 0,01 (n, o)	0,004 – 0,3 (a, h, l, m)	0,002 (h, n)
6-Nitrochrysene	0,003 – 0,004 (n, o)	up to 1,5 (b, h, j, l, n)	0,0003 – 0,002 (e, h, n)
6-Nitrobenzo[<i>a</i>]pyrene	0,007 – 0,01 (l, n)	0,001 – 0,01 (h, n)	0,0002 – 0,005 (n, o)
3-Nitrobenzanthrone	0,001 – 0,01 (l)	-	-
a) Atkinson et al. (1988)	Glendora (USA)		
b) Matsushita and Ida (1986)	Tokio (Japan)		
c) Hunt and Meisel (1995)	Fresno (USA)		
d) Tokiwa et al. (1990a)	Sapporo (Japan)		
e) Vasconcellos et al. (1998)	Alta Floresta (Brazil)		
f) Wilson et al. (1995)	Houston (USA)		
g) Berlincioni et al. (1995)	Florence (Italy)		
h) Albinet et al. (2007)	Marseille (France)		
i) Mücke et al. (2009)	Munich (Germany)		
j) Di Filippo et al. (2010)	Rome (Italy)		
k) Tsapakis et al. (2007)	Finokalia (Greece)		
l) Valle-Hernandez et al. (2010)	Mexico City (Mexico)		
m) Wang et al. (2011)	Beijing (China)		
n) Albinet et al. (2008a, 2008b)	Chamonix, Maurienne (France)		
o) Ringuet et al. (2012)	Paris (France)		

Zdroj: TECHNICAL REPORT FINAL DRAFT FprCEN/TR 16998, Ambient air - Report on nitro- and oxy-PAHs - Origin, toxicity, concentrations and measurement methods)

Měření Nitro-PAH, jejichž významným zdrojem jsou spalovací procesy – doprava, se v současné době víceméně rozvíjí. Jednou z příčin jsou jejich velmi nízké koncentrace v rozmezí desetin až desítek pg/m³. Výše uvedená tabulka z roku 2016 určitým způsobem shrnuje realizovaná měření ve třech typech lokalit – dopravní (trafic), městské (urban) a venkovské (rural), kdy, podle očekávání jsou vyšší hodnoty měřeny v městských dopravně zatížených lokalitách.

- Metabolismus

Nitro-PAU představují komplexní skupinu chemických látek, které jsou dobře vstřebávány a metabolizovány a vykazují různé metabolické profily. Zatímco metabolismus PAU zahrnuje oxidaci a následnou hydrolýzu a/nebo konjugační reakce (IPCS, 1998), metabolismus nitro-PAU je ještě složitější. Pro konkrétní nitro-PAU může existovat několik metabolických drah, často v závislosti na cestě podání. Zdá se, že existuje alespoň pět metabolických aktivačních drah, kterými mohou být mutace indukovány nitro-PAU v bakteriálních a savčích systémech a/nebo prostřednictvím kterých dochází k vazbě DNA. Metabolismus nitro-PAU může zahrnovat nitro redukci, nitro redukci následovanou esterifikací (především acetylací), oxidaci benzenového kruhu, oxidaci benzenového kruhu s nitro redukcí a oxidaci benzenového kruhu s nitro redukcí následovanou esterifikací.

1-1-Nitropyren a 2-nitrofluoren podávané různými cestami jsou rychle absorbovány a metabolizovány a metabolity jsou konjugovány a vylučovány. Bylo zjištěno, že radioaktivně značený 1-nitropyren je široce distribuován v těle krysa a myši po všech způsobech podání. Ukázalo se, že po intragastrickém a intraperitoneálním podání a po inhalaci 1-nitropyrenu nebo 1-nitropyrenu obaleného na částicích výfukových plynů vznětových motorů se většina, 50–60 % podané dávky, vylučuje stolicí, zatímco moč obsahovala asi 15–20 % dávky. Naproti tomu hlavní cestou vylučování 2-nitrofluorenu je moč (63).

Nitro redukce se zdá být hlavní metabolickou přeměnou u bakterií, u vyšších organismů in vivo se díky přítomnosti bakterií pravděpodobně odehrává v intestinálním traktu. V oxidativním metabolismu je prvním krokem transformace na primární metabolit fáze I jako např. epoxid, fenol a dihydrodiol. V savčích systémech je metabolit vzniklý ve fázi I konjugován s glutathionem, sulfátem nebo glukuronovou kyselinou za vzniku metabolitu fáze II, který je více polární a tudíž rozpustný ve vodném prostředí organismu než mateřská látka, a může tak být vyloučen močí nebo může být dekonjugován ve střevě např. intestinální mikroflórou a opětovně vstřebán. Zdá se, že střevní mikroflóra hraje roli v metabolismu prostřednictvím nitroredukce a/nebo dekonjugace. Dekonjugace může zvýšit enterohepatální oběh. Metabolismus byl studován pouze u několika nitro-PAU. U většiny sloučenin nejsou metabolické cesty jasně pochopeny.

- Biomarkery

Nalézt vhodné biomarkery pro nitro-PAU se ukázalo jako obtížnější úkol, než se očekávalo, kvůli mnoha možným metabolickým drahám a nízkému výtěžku více aduktů DNA měřených ³²P po značení. Všechny nitro-PAU nesledují stejné aktivační dráhy. Některé jsou mutagenní, když jsou redukovány na arylhydroxylamin jiné (např. 1,8- a 1,6-dinitropyren) se redukují na arylhydroxylamin a pak vyžadují další O-esterifikaci (zejména O-acetylaci) na acyloxyester pro mutagenitu. Některé mohou být mutagenní až po aktivaci oxidací na reaktivní epoxidy nebo dihydrodiolepoxidy. Hlavní adukty DNA detekované s nitro-PAU in vivo a in vitro jsou C8-substituované adukty deoxyguanosinu. Adukty DNA vzniklé

nitroredukcí nitro-PAU jsou lépe charakterizovány než ty, které vznikají oxidativním metabolismem, i když oxidativní metabolismus může mít větší význam v metabolismu savců (63).

Dinitropyreny (zejména 1,6-dinitropyren) byly také navrženy jako alternativa k 1-nitropyrenu jako biomarkery. Přestože jsou přítomny v mnohem nižších množstvích (pouze 1 % množství 1-nitropyrenu), jsou více karcinogenní než 1-nitropyren a jejich adukty DNA jsou lépe charakterizovány (64). Z toho bylo odvozeno, že mutace T-lymfocytů produkované adukty 1,6-dinitropyren-DNA mohou být citlivějšími biomarkery s delší životností než samotné adukty DNA při hodnocení předchozích expozic nitro-PAU.

Dalším přístupem je použití proteinových (albuminových nebo Hb) aduktů nitro-PAU jako biomarkerů expozice. Vývoj citlivých analytických technik umožnil studium aduktů nitro-PAU-Hb jako biomarkerů expozice nitro-PAU u potkanů a u lidí v pracovních skupinách expozice: pracovníci koksoven zařazení do různých pracovních kategorií a pracovníky autobusových garáží, stejně jako kontrolní skupiny s expozicí ve městech a na venkově (65). Ve studiích lidských biomarkerů bylo vybráno pět nitro-PAU — 1-nitropyren, 2-nitrofluoren, 3-nitrofluoranthren, 9-nitrofenantren a 6-nitrochrysen — a byly vyvinuty metody pro stanovení aduktů Hb typu kyseliny sulfinové, které tvoří *in vivo*. DNA adukty, které jsou výsledkem nitroredukčního mechanismu, jsou lépe popsány než ty, které vznikají oxidativním metabolismem, ačkoliv tyto mají v savčím metabolismu pravděpodobně větší důležitost. (63)

Hledání vhodných biomarkerů bylo cílem epidemiologické studie provedené ve Velké Británii. (65) Byly vybrány tři skupiny osob s různou mírou expozice (vysoká, střední, nízká), hodnoceno podle analýzy 1-nitropyrenu extrahovaného z celkových suspendovaných částic ve vzorcích vzduchu z vybraných míst. Vzorky krve byly analyzovány od 29 pracovníků autobusových garáží (pracovně vystavených výfukovým plynům nafty) a od 20 pracovníků městských nemocnic a 14 pracovníků místního úřadu jako kontroly. Ve většině vzorků krve byly nalezeny adukty Hb nad detekčním limitem. Nejhojnější adukty byly z 1-nitropyrenu a 2-nitrofluorenu, ale mezi skupinami nebyly žádné rozdíly, což naznačuje, že obě jsou široce rozšířenými kontaminanty životního prostředí, což vede k významným pozadřovým expozicím.

- **Genotoxicita**

Genotoxicita nitro-PAU je testována *in vitro*, desítky z nich byly testovány v mikrosomovém testu *Salmonella typhimurium*. Ve srovnání s mateřskými PAU byla většina nitro-PAU jasně účinnější v testu mikrosomů *S. typhimurium* bez metabolické aktivace. Existují důkazy, že nitro-PAU s nitroskupinami kolmými k aromatickému kruhu nejsou tak mutagenní jako izomery s paralelní nitro orientací. Některé nitro-PAU jsou v bakteriálních testech extrémně mutagenní. To vedlo dříve závěru, že nitro-PAU patří mezi nejdůležitější mutageny ve vzorcích aerosolu. Tato citlivost *S. typhimurium* na nitro-PAU je připisována přítomnosti nativních nitroreduktázových enzymů, které iniciují metabolismus nitro-PAU na jejich

konečné mutagenní metabolity (arylhdroxylaminy). Tyto výsledky u bakterií mohou být zavádějící, protože nitro-PAU jako skupina byly shledány méně mutagenními než PAU ve studiích in vitro v lidských buněčných kulturách. Ale srovnávací studie karcinogeneze – např. test na myších novorozencích – ukazují, že některé nitro-PAU jsou více karcinogenní než BaP.

- **Karcinogenita**

Nitro-PAU patří mezi přímé karcinogeny, látky vykazující nebezpečné účinky, aniž by musely projít aktivací pomocí mikrosomálních enzymů. Jednotlivé nitro-PAU se liší svými mutagenními a karcinogenními účinky. Pravděpodobně je to dáno strukturní orientací nitroskupiny. Koplanární orientace je přístupná pro redukci a tím vykazuje vyšší mutagenitu, naopak kolmá orientace zajišťuje sterické krytí nitroskupiny inhibující redukci. Dalším důvodem může být interakce nitroskupiny s π -elektronovým systémem kondenzovaných aromatických kruhů, při které silná interakce znamená silnou mutagenitu.

Substituce nitroskupiny na mateřské PAU nemění karcinogenitu a/nebo mutagenitu konzistentním způsobem (tj. někdy zvyšuje a někdy snižuje účinek). Jako příklady bylo zjištěno, že nitrované benzo[a]pyreny jsou obecně méně účinnými karcinogeny než mateřská sloučenina BaP ačkoli pro 3,6-dinitrobenzo[a]pyrenem existují rozporuplné výsledky a 2-Nitrobenzo[a]pyren má pravděpodobně vyšší účinnost než B[a]P, ale přímé srovnání není k dispozici. Mono- nebo dinitrované pyreny jsou však více karcinogenní než pyren a 3-nitropyren je více karcinogenní než perylen. 6-nitrochrysen byl více karcinogenní než chrysen po i.p. podání, ale byl méně aktivní s ohledem na lokální účinky po dermální expozici. Další příklady nitro-PAU s menší aktivitou než mateřská PAU jsou 7-nitrobenz[a]anthracen versus benz[a]anthracen a 7-izodibenz[a,h]anthracen versus dibenz[a,h]anthracen.

Údaje o karcinogenních účincích jsou k dispozici pro 28 nitro-PAU. Ačkoli je inhalace hlavní cestou expozice u lidí, není k dispozici žádná dlouhodobá inhalační studie pro žádný nitro-PAU. Většina studií zkoumala karcinogenní účinky nitro-PAU při orální, topické aplikaci, plicní implantaci a intratracheální aplikaci.

Kromě lokálních účinků v místě vpichu vyvolaly nitro-PAU především systémové nádory v tkáni mléčné žlázy, plicích, játrech a hematopoetickém systému. 6-nitrochrysen se jeví jako nejvíce karcinogenní ze zde zvažovaných nitro-PAU. Karcinogenita 1-nitropyrenu a dinitropyrenu se liší v závislosti na způsobu podání. Nitropyren (1-NP) je klasifikován jako karcinogen skupiny 2B a je jednou z hlavních složek výfukových částic vznětových motorů.

Přes velmi omezené informace je snaha řady autorů hodnotit výskyt nitro-PAU v ovzduší společně, nebo ve srovnání s PAU z hlediska možných karcinogenních rizik pro obyvatelstvo. Například v Grenoblu ve Francii (66) bylo realizováno roční měření 21 PAU, 27 oxy-PAU a 32 nitro-PAU v ovzduší. Měření bylo prováděno každý třetí den v plynné (G) i pevné fázi PM₁₀ (P)). Průměrné celkové koncentrace (G+P) PAU a oxy-PAU byly ve stejném rozmezí a pohybovaly se kolem 10 ng/m³. Nitro-PAU byly v koncentracích

50 až 100krát nižších, v průměru 100 pg/m^3 . Koncentrace polycyklických aromatických sloučenin byly 5 až 7krát vyšší v "chladném" období (říjen až březen) než v "teplém" období (duben až září). Riziko rakoviny bylo posouzeno pomocí faktorů toxické ekvivalence dostupných v literatuře (19 PAU, 10 nitro-PAU a 1 oxy-PAU). Celkově se polycyklické aromatické sloučeniny vázané na částice podílely na riziku rakoviny přibližně 76 %. Zatímco PAU se na celkovém riziku rakoviny polycyklických aromatických sloučenin podílely nejvíce, oxy- a nitro-PAU mohly představovat až 24 %. Autoři konstatují, že kvantifikace rizika napříč třídami látek je omezena dostupností toxikologických údajů. Podobné vyhodnocení dopadů PAU a nitro-PAU lze nalézt v několika pracích, zejména čínských autorů (67, 74)

Faktory ekvivalence potence (PEF/TEF) pro PAU pro indukci rakoviny byly odvozeny několika autory (68) Na základě omezených dostupných studií karcinogenity zařadil Office of Environmental Health Hazard Assessment of California, USA nitro-PAU do svého schématu PEF: BaP, 1,0 (indexová sloučenina); 1,6-dinitropyren a 6-nitrochrysen, 10; 1,8-dinitropyren, 1,0; 1- a 4-nitropyren, 0,1; 2-nitrofluoren, 0,01.

Faktory ekvivalentní karcinogenní potence PEF jsou používány řadu let a stejně tak dlouho jsou předmětem diskuzí odborníků z hlediska přínosů a nedostatků jejich používání. Použití PEF je sporné z mnoha důvodů (69): a) slabá databáze; b) použití testů, jako je injekce do plic novorozence myši; c) zaokrouhlení na nejbližší faktor 10; d) možnost, že interakce nitro-PAU jsou spíše synergické nebo antagonistické než aditivní; a e) možnost, že některé nekarcinogenní sloučeniny zesilují aktivitu karcinogenních nitro-PAU (nebo PAU). Na druhé straně není prozatím jiný nástroj pro posouzení komplexní směsi látek s různou karcinogenní potencí, takže použití PEF má také velké množství zastánců.

Nitro-PAU jsou předmětem zájmu zejména z důvodu genotoxicity, mutagenity a karcinogenity. Proto také existuje jen minimum prací, které by se zabývaly dalšími účinky na zdraví spadajícími do nekarcinogenní toxicity těchto látek. Byla např. zkoumána indukce prozánětlivých signálů nitropyrenu (1-NP) pomocí kultivovaných lidských bronchiálních epitelálních buněk BEAS-2B. Pomocí analýzy mikročipů a techniky RT-PCR bylo zjištěno, že 1-NP indukuje expresi genů souvisejících s prozánětlivými reakcemi, jako jsou pentaxin, IL-1beta, IL-6, IL-8, C-X-C motif ligand 2 (CXCL2) a TNF-alfa. Bylo také zjištěno, že 1-NP vyvolává tvorbu reaktivních forem kyslíku a pokles intracelulárního glutathionu. To naznačuje, že 1-NP může být klíčovou složkou částic z emisí diesellových motorů, která způsobuje zánětlivá onemocnění (75).

Nitroderiváty PAU jsou předmětem zájmu především pro své mutagenní a karcinogenní účinky, působí v organismu jako přímé karcinogeny, které nevyžadují metabolickou aktivaci. Některé nitro-PAU jsou Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny klasifikovány jako možné nebo pravděpodobné lidské karcinogeny. Substitute nemá na toxické účinky jednoznačný efekt, v některých případech ji zvyšuje a v jiných snižuje. Nekarcinogenní toxicita je zkoumána minimálně, data naznačují prozánětlivé působení.

Vzhledem k tomu, že jsou nitro-PAU podstatně méně prozkoumané než mateřské PAU, data pro odhad jejich vlivu na zdraví jsou omezená. Není k dispozici žádná dlouhodobá inhalační studie pro žádný nitro-PAU. V některých studiích jsou pro odhad jejich působení používány faktory ekvivalence karcinogenní potence (PEF), které byly odvozeny několika autory. Existují jen pro omezený počet nitro-PAU a jejich použití je zatíženo vysokou mírou nejistoty, ale jsou jedinou možností hrubého/orientačního odhadu jejich vlivu na zdraví.

3. Diskuze a závěry

PAU jsou dobře známé pro své karcinogenní vlastnosti a předpokládá se, že mohou významně přispívat ke karcinogenitě venkovního ovzduší. Řada PAU je klasifikována jako karcinogenní nebo pravděpodobně karcinogenní pro člověka, je prokázáno, že PAU způsobují přímé poškození DNA. Předpokládá se, že expozice PAU v ovzduší je spojena s různými typy rakoviny. Posouzení expozice PAU je v běžné populaci obtížné kvůli dlouhému časovému období pro rozvoj rakoviny a podmínkám expozice, které se mohou v průběhu času měnit. Současné znalosti neumožňují vyvozovat závěry, zda je BaP reprezentativní jako marker pro expozici jiným PAU. Jako prioritní se jeví výzkum účinků komplexních směsí PAU odpovídajících zátěži různých typů prostředí. Jde o data, která jsou potřeba pro zlepšení možností hodnocení dopadu expozice PAU v reálných podmínkách. Neméně důležité je celé spektrum systémových účinků, které mají PAU na kardiovaskulární, imunitní a respirační systém. Přes velké kvantum studií není ale zatím k dispozici závěr, který by umožňoval zařazení nekarcinogenních účinků PAU do kvantitativního hodnocení dopadů na zdraví. Nitrované PAU jsou již delší dobu předmětem výzkumných studií, zejména pro své karcinogenní a mutagenní účinky. Přesto je informací o jejich působení také nedostatek, z hlediska možnosti hodnocení dopadů venkovního ovzduší chybí inhalační studie, která by charakterizovala dlouhodobé působení na zdraví.

4. Výzkumné činnosti – prvek novosti

Tato etapa zpracování odborných podkladů, shromážděných v rámci rešerše literatury, se zabývala přezkoumáním a systematickým shrnutím epidemiologických poznatků o vztahu mezi expozicí PAU v ovzduší a karcinogenními vlivy na lidské zdraví a současnými možnostmi odhadu tohoto vlivu při hodnocení znečištění ovzduší. Pozornost byla věnována aktuálnímu přístupu odborníků, kteří se touto problematikou v rámci mezinárodního výzkumu zabývají. Zpracování navazuje na předchozí etapu, která se zabývala nekarcinogenními účinky PAU a nitroderiváty PAU.

5. Základní literární podklady

- [1] Esser C, Rannug A. The aryl hydrocarbon receptor in barrier organ physiology, immunology, and toxicology. *Pharmacological Reviews*. 2015;67(2):259–79.
- [2] Larigot L, Juricek L, Dairou J, Coumoul X. AhR signaling pathways and regulatory functions. *Biochimie Open*. 2018;7:1–9.
- [3] Li N, Wang M, Bramble LA, Schmitz DA, Schauer JJ, Sioutas C et al. The adjuvant effect of ambient particulate matter is closely reflected by the particulate oxidant potential. *Environmental Health Perspectives*. 2009;117(7):1116–23.
- [4] Karimi P, Peters KO, Bidad K, Strickland PT. Polycyclic aromatic hydrocarbons and childhood asthma. *European Journal of Epidemiology*. 2015;30(2):91–101.
- [5] Brugha R, Grigg J. Urban air pollution and respiratory infections. *Paediatric 9 Respiratory Reviews*. 2014;15(2):194–9.
- [6] Hauptmann M, Schaible UE. Linking microbiota and respiratory disease. *FEBS Letters*. 2016;590(21):3721–38.
- [7] Låg M, Øvrevik J, Refsnes M, Holme JA. Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons in air pollution-induced non-malignant respiratory diseases. *Respiratory Research*. 2020;21:299.
- [8] Padula AM, Balmes JR, Eisen EA, Mann J, Noth EM, Lurmann FW et al. Ambient polycyclic aromatic hydrocarbons and pulmonary function in children. *Journal of 2 Exposure Science and Environmental Epidemiology*. 2015;25(3):295–302.
- [9] Jedrychowski W, Galas A, Pac A, Flak E, Camman D, Rauh V et al. Prenatal ambient air exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and the occurrence of respirator symptoms over the first year of life. *European Journal of Epidemiology*. 6 2005;20(9):775–82.
- [10] Zhang LP, Zhang X, Duan HW, Meng T, Niu Y, Huang CF et al. Long-term exposure to diesel engine exhaust induced lung function decline in a cross sectional study. *Industrial Health*. 2017;55(1):13–26.
- [11] Wang B, Li Z, Ma Y, Qiu X, Ren A. Association of polycyclic aromatic hydrocarbons in housewives' hair with hypertension. *Chemosphere*. 2016;153:315–21.
- [12] Bostrom CE, Gerde P, Hanberg A, Jernstrom B, Johansson C, Kyrklund T et al. Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environmental Health Perspectives*. 2002;110:451– 88.
- [13] Araujo JA, Barajas B, Kleinman M, Wang X, Bennett BJ, Gong KW et al. Ambient particulate pollutants in the ultrafine range promote early atherosclerosis and systemic oxidative stress. *Circulation Research*. 2008;102(5):589–96.6
- [14] Araujo JA, Nel AE. Particulate matter and atherosclerosis: role of particle size composition and oxidative stress. *Particle and Fibre Toxicology*. 2009;6:24.
- [15] Scheer V, Kirchner U, Casati R, Vogt R, Philippin S, Wiedensohler A et al. Composition of semi-volatile particles from diesel exhaust. *SAE Technical Paper, 2005-01-0197*. SAE; 2005. doi:10.4271/2005-01-0197.
- [16] Miller MR, Raftis JB, Langrish JP, McLean SG, Samutrtai P, Connell SP et al. Inhaled nanoparticles accumulate at sites of vascular disease. *ACS Nano*. 2017;11(5):4542–52

- [17] Bonvallot V, Baeza-Squiban A, Baulig A, Brulant S, Boland S, Muzeau F et al. Organic compounds from diesel exhaust particles elicit a proinflammatory response in human airway epithelial cells and induce cytochrome p450 1A1 expression. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2001;25:515–21.
- [18] Brinchmann BC, Skuland T, Rambol MH, Szoke K, Brinchmann JE, Gutleb AC et al. Lipophilic components of diesel exhaust particles induce pro-inflammatory responses in human endothelial cells through AhR dependent pathway(s). *Particle and Fibre Toxicology*. 2018;15(1):21.
- [19] Keebaugh AJ, Sioutas C, Pakbin P, Schauer JJ, Mendez LB, Kleinman MT. Is atherosclerotic disease associated with organic components of ambient fine particles? *Science of the Total Environment*. 2015;533:69–75.
- [20] Brook RD, Rajagopalan S, Pope CA 3rd, Brook JR, Bhatnagar A, Diez-Roux AV et al., and on behalf of the American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention, Council on the Kidney in Cardiovascular Disease, and Council on Nutrition, Physical Activity and Metabolism. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: an update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2010;121(21):2331–78
- [21] Penn A, Murphy G, Barker S, Henk W, Penn L. Combustion-derived ultrafine particles transport organic toxicants to target respiratory cells. *Environmental Health Perspectives*. 2005;113(8):956–63.
- [22] Al-Daghri NM, Alokail MS, Abd-Alrahman SH, Draz HM, Yakout SM, Clerici M. Polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and pediatric asthma in children: a case-control study. *Environmental Health*. 2013;12:1.
- [23] Wang IJ, Karmaus WJ, Yang CC. Polycyclic aromatic hydrocarbons exposure, oxidative stress, and asthma in children. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 2017;90(3):297–303.
- [24] Korashy HM, El-Kadi AO. The role of aryl hydrocarbon receptor in the pathogenesis of cardiovascular diseases. *Drug Metabolism Reviews*. 2006;38(3):411–50.
- [25] Annas A, Brunstrom B, Brandt I, Brittebo EB. Induction of ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) and endothelial activation of the heterocyclic amine Trp-P-1 in bird embryo hearts. *Archives of Toxicology*. 1998;72(7):402–10.
- [26] Yang L, Wang WC, Lung SC, Sun Z, Chen C, Chen JK et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons are associated with increased risk of chronic obstructive pulmonary disease during haze events in China. *Science of the Total Environment*. 2017;574:1649–58
- [27] Lee KK, Miller MR, Shah ASV. Air pollution and stroke. *Journal of Stroke*. 2018; 20(1):2–11.
- [28] Oesterling E, Toborek M, Hennig B. Benzo[a]pyrene induces intercellular adhesion molecule-1 through a caveolae and aryl hydrocarbon receptor mediated pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2008;232(2):309–16.
- [29] Sandow SL, Haddock RE, Hill CE, Chadha PS, Kerr PM, Welsh DG et al. What's where and why at a vascular myoendothelial microdomain signalling complex. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2009;36(1):67–76.
- [30] Sandow SL, Senadheera S, Grayson TH, Welsh DG, Murphy TV. Calcium and endothelium-mediated vasodilator signaling. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2012; 740:811–31.

- [31] Kelly FJ, Fussell JC. Linking ambient particulate matter pollution effects with oxidative biology and immune responses. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2015; 1340:84–94.
- [32] Vogel CFA, Sciallo E, Wong P, Kuzmicky P, Kado N, Matsumura F. Induction of proinflammatory cytokines and C-reactive protein in human macrophage cell line U937 exposed to air pollution particulates. *Environmental Health Perspectives*. 2005; 113(11):1536–41.
- [33] Zhang N. The role of endogenous aryl hydrocarbon receptor signaling in cardiovascular physiology. *Journal of Cardiovascular Disease Research*. 2011;2(2):91–5.
- [34] Bae S, Pan XC, Kim SY, Park K, Kim YH, Kim H et al. Exposures to particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons and oxidative stress in schoolchildren. *Environmental Health Perspectives*. 2010; 118:579–83.
- [35] Everett CJ, King DE, Player MS, Matheson EM, Post RE, Mainous AG 3rd. Association of urinary polycyclic aromatic hydrocarbons and serum C-reactive protein. *Environmental Research*. 2010; 110(1):79–82.
- [36] Liang JJ, Yi GL, Mao GS, Wang DM, Dai XY. [Influence of coke oven emissions on workers' blood pressure and electrocardiographic findings]. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi* [Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases]. 2016;34(9):667–9.
- [37] Sroczynski J, Biskupek K, Podolecki A, Schneiberg P. [Effect of work in the coke-producing plant on the circulatory system of workers]. *Medycyna Pracy* [Medical Practice]. 1990;41(2):99–107.
- [38] Yang K, Jiang X, Cheng S, Chen C, Cao X, Tu B. Effects of coke oven emissions and benzo[a]pyrene on blood pressure and electrocardiogram in coke oven workers. *Journal of Occupational Health*. 2017;59(1):1–7.
- [39] Jacobs L, Buczynska A, Walgraeve C, Delcloo A, Potgieter-Vermaak S, Van Grieken R et al. Acute changes in pulse pressure in relation to constituents of particulate air pollution in elderly persons. *Environmental Research*. 2012; 117:60–7.
- [40] Bangia KS, Symanski E, Strom SS, Bondy M. A cross-sectional analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and diesel particulate matter exposures and hypertension among individuals of Mexican origin. *Environmental Health*. 2015; 14:51.
- [41] Trasande L, Urbina EM, Khoder M, Alghamdi M, Shabaj I, Alam MS et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons, brachial artery distensibility and blood pressure among children residing near an oil refinery. *Environmental Research*. 2015;136:133–40.
- [42] Sancini A, Caciari T, Sinibaldi F, Sacco C, Boscolo P, Giubilati R et al. Blood 23 pressure changes and polycyclic aromatic hydrocarbons in outdoor workers. *Clinica 24 Terapeutica*. 2014;165(4):e295–303.
- [43] Toxicological review of benzo[a]pyrene. Washington (DC): United States 9 Environmental Protection Agency, Integrated Risk Information System; 2017.
- [44] Perera FP, Rauh V, Whyatt RM, Tsai WY, Tang D, Diaz D et al. Effect of prenatal 34 exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons on neurodevelopment in the 35 first 3 years of life among inner-city children. *Environmental Health Perspectives*. 36 2006;114(8):1287–92.
- [45] Perera FP, Li Z, Whyatt R, Hoepner L, Wang S, Camann D et al. Prenatal airborne polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and child IQ at age 5 years. *Pediatrics*. 2009;124(2):e195–202.

- [46] Perera FP, Tang D, Wang S, Vishnevetsky J, Zhang B, Diaz D et al. Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and child behavior at age 6–7 years. *Environmental Health Perspectives*. 2012;120(6):921–6.
- [47] Perera F, Weiland K, Neidell M, Wang S. Prenatal exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and IQ: estimated benefit of pollution reduction. *Journal of Public Health Policy*. 2014;35(3):327–36.
- [48] Edwards SC, Jedrychowski W, Butscher M, Camann D, Kieltyka A, Mroz E et al. Prenatal exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and children's intelligence at 5 years of age in a prospective cohort study in Poland. *Environmental Health Perspectives*. 2010;118(9):1326–31.
- [49] Genkinger JM, Stigter L, Jedrychowski W, Huang TJ, Wang S, Roen EL et al. Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure, antioxidant levels and behavioral development of children ages 6–9. *Environmental Research*. 2015;140:136–44.
- [50] Mortamais M, Pujol J, van Drooge BL, Macia D, Martinez-Vilavella G, Reynes C et al. Effect of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons on basal ganglia and attention-deficit hyperactivity disorder symptoms in primary school children. *Environment International*. 2017;105:12–19.
- [51] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. A review of human carcinogens. Part F: Chemical agents and related occupations. Lyon, 23 France: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2012.
- [52] Achten C, Andersson JT. Overview of polycyclic aromatic compounds (PAC). *Polycyclic Aromatic Compounds*. 2015;35(2–4):177–86.
- [53] Lundstedt S, White PA, Lemieux CL, Lynes KD, Lambert IB, Oberg L et al. Sources, fate, and toxic hazards of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at PAH-contaminated sites. *Ambio*. 2007;36(6):475–85.
- [54] Arlt VM. 3-Nitrobenzanthrone, a potential human cancer hazard in diesel exhaust and urban air pollution: a review of the evidence. *Mutagenesis*. 2005;20(6):399–410.
- [55] Pratt MM, John K, MacLean AB, Afework S, Phillips DH, Poirier MC. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and DNA adduct semi-quantitation in archived human tissues. *Int J Environ Res Public Health*. 2011;8(7):2675–91.
- [56] Castaño-Vinyals G, D'Errico A, Malats N, Kogevinas M. Biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental air pollution. *Occupational and environmental medicine*. 2004;61(4):e12.
- [57] Chen YY, Kao TW, Wang CC, Wu CJ, Zhou YC, Chen WL. Association between polycyclic aromatic hydrocarbons exposure and bone turnover in adults. *Eur J Endocrinol*. 2020;182(3):333–41.
- [58] Chen YY, Wang CC, Kao TW, Yang HF, Sun YS, Chen WL. Detrimental association between quadriceps strength and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in elderly adults. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. *Physiologie appliquee nutrition et metabolisme*. 2020;45(8):829–34.
- [59] Li J, Zhu X, Yu K, Jiang H, Zhang Y, Wang B, Liu X, Deng S, Hu J, Deng Q, et al. Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Accelerated DNA Methylation Aging. *Environ Health Perspect*. 2018;126(6):067005–067005.

- [60] Bandowe BAM, Meusel H. Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons (nitro-PAHs) in the environment - A review. *Sci Total Environ.* 2017 Mar 1;581-582:237-257. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.12.115. Epub 2017 Jan 7. PMID: 28069306.
- [61] Albinet A, Leoz-Garziandia E, Budzinski H, Viilenave E. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nitrated PAHs and oxygenated PAHs in ambient air of the Marseilles area (South of France): concentrations and sources. *Sci Total Environ.* 2007 Oct 1;384(1-3):280-92. doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.04.028. Epub 2007 Jun 27. PMID: 17590415.
- [62] Su CH, Ho YC, Lee MW, Tseng CC, Lee SS, Hsieh MK, Chen HH, Lee CY, Wu SW, Kuan YH. 1-Nitropyrene Induced Reactive Oxygen Species-Mediated Apoptosis in Macrophages through AIF Nuclear Translocation and AMPK/Nrf-2/HO-1 Pathway Activation. *Oxid Med Cell Longev.* 2021 Jul 13;2021:9314342. doi: 10.1155/2021/9314342. PMID: 34336119; PMCID: PMC8294986.
- [63] Selected Nitro- and Nitro-oxy-polycyclic aromatic hydrocarbon, Environmental Health Criteria 229, World Health Organization, Geneva, 2003
- [64] Smith BA, Fullerton NF, Heflich RH & Beland FA (1995) DNA adduct formation and T-lymphocyte mutation induction in F334 rats implanted with tumorigenic doses of 1,6-dinitropyrene. *Cancer Res*, 55: 2316–2324.
- [65] Zwirner-Baier I & Neumann HG (1999) Polycyclic nitroarenes (nitro-PAHs) as biomarkers of exposure to diesel exhaust. *Mutat Res*, 441: 135–144.
- [66] Tomaz S, Shahpoury P, Jaffrezo JL, Lammel G, Perraudin E, Villenave E, Albinet A. One-year study of polycyclic aromatic compounds at an urban site in Grenoble (France): Seasonal variations, gas/particle partitioning and cancer risk estimation. *Sci Total Environ.* 2016 Sep 15;565:1071-1083. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.05.137. Epub 2016 May 31. PMID: 27261422.
- [67] Zhang, L.L.; Tokuda, T.; Yang, L.; Zhou, Q.Y.; Zhang, X.; Xing, W.L.; Wu, Q.; Zhou, Z.; Chen, R.; Kameda, T.; et al. Characteristics and Health Risks of Particulate Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Nitro-Polycyclic Aromatic Hydrocarbons at Urban and Suburban Elementary Schools in Shanghai, China. *Asian J. Atmos. Environ.* 2019, 13, 10.
- [68] Selected Non-Heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons - Environmental Health Criteria 202, World Health Organization, Geneva, 1998
- [69] Collins JF, Brown JP, Alexeeff GV & Salmon AG (1998) Potency equivalency factors for some polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives. *Regul Toxicol Pharmacol*, 28: 45–54.
- [70] IARC Monographs on a review of human carcinogens: Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures IARC, Lyon, France. IARC, 2010. , ISBN 978 92 832 1292 8 <https://monographs.iarc.fr/iarc-monographs-on-the-evaluation-of-carcinogenic-risks-to-humans-29/>
- [71] IARC. Air Pollution and Cancer. Scientific publication no. 161. WHO 2013, Geneva, Switzerland. ISBN 978-92-832-2166-1
- [72] Øvrevik, J., Holme, J.A., Lag, M., Schwarze, P.E., Refsnes, M., 2013. Differential chemokine induction by 1-nitropyrene and 1-aminopyrene in bronchial epithelial cells: importance of the TACE/TGF- α /EGFR-pathway. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 35, 235–239.

- [73] Bostrom CE, Gerde P, Hanberg A, Jernstrom B, Johansson C, Kyrklund T et al.: Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environmental Health Perspectives*. 2002;110:451– 88.
- [74] Wang Y, Zhang H, Zhang X, Bai P, Neroda A, Mishukov VF, Zhang L, Hayakawa K, Nagao S, Tang N. PM-Bound Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Nitro-Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Ambient Air of Vladivostok: Seasonal Variation, Sources, Health Risk Assessment and Long-Term Variability. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Mar 1;19(5):2878. doi: 10.3390/ijerph19052878. PMID: 35270572; PMCID: PMC8910546.
- [75] Park EJ, Park K. Induction of pro-inflammatory signals by 1-nitropyrene in cultured BEAS-2B cells. *Toxicol Lett*. 2009 Jan 30;184(2):126-33. doi: 10.1016/j.toxlet.2008.10.028. Epub 2008 Nov 7. PMID: 19041380.
- [76] Westphal GA, Krahl J, Munack A, Rosenkranz N, Schroder O, Schaak J et al. Combustion of hydrotreated vegetable oil and jatropha methyl ester in a heavy duty engine: emissions and bacterial mutagenicity. *Environmental Science and Technology*. 2013;47(11):6038–46.
- [77] Andre V, Barraud C, Capron D, Preterre D, Keravec V, Vendeville C et al. Comparative mutagenicity and genotoxicity of particles and aerosols emitted by the combustion of standard vs. rapeseed methyl ester supplemented bio-diesel fuels: impact of after treatment devices: oxidation catalyst and particulate filter. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2015;777:33–42.
- [78] Douki T, Corbiere C, Preterre D, Martin PJ, Lecureur V, Andre V et al. Comparative study of diesel and biodiesel exhausts on lung oxidative stress and genotoxicity in rats. *Environmental Pollution*. 2018;235:514–24.
- [79] Cervena T, Rossnerova A, Sikorova J, Beranek V, Vojtisek-Lom M, Ciganek M et al. DNA damage potential of engine emissions measured in vitro by micronucleus test in human bronchial epithelial cells. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 2017;121(Suppl. 3):102–8.
- [80] Kowalska M, Wegierek-Ciuk A, Brzoska K, Wojewodzka M, Meczynska-Wielgosz S, Gromadzka-Ostrowska J et al. Genotoxic potential of diesel exhaust particles from the combustion of first- and second-generation biodiesel fuels: the FuelHealth project. *Environmental Science and Pollution Research*. 2017;24(31):24223–34.
- [81] Danielsen PH, Moller P, Jensen KA, Sharma AK, Wallin H, Bossi R et al. Oxidative stress, DNA damage, and inflammation induced by ambient air and wood smoke particulate matter in human A549 and THP-1 cell lines. *Chemical Research in Toxicology*. 2011;24(2):168–84.
- [82] Velali E, Papachristou E, Pantazaki A, Besis A, Samara C, Labrianidis C et al. In vitro cellular toxicity induced by extractable organic fractions of particles exhausted from urban combustion sources: role of PAHs. *Environmental Pollution*. 2018;243(Pt B):1166–76.
- [83] Strandell M, Zakrisson S, Alsberg T, Westerholm R, Winquist L, Rannug U. Chemical analysis and biological testing of a polar fraction of ambient air, diesel engine, and gasoline engine particulate extracts. *Environmental Health Perspectives*. 1994;102(Suppl. 4):85–92.
- [84] DeMarini DM, Brooks LR, Warren SH, Kobayashi T, Gilmour MI, Singh P. Bioassay-directed fractionation and salmonella mutagenicity of automobile and forklift diesel exhaust particles. *Environmental Health Perspectives*. 2004;112(8):814–9.

- [85] Mutlu E, Warren SH, Matthews PP, King C, Linak WP, Kooter IM et al. Bioassay-directed fractionation and sub-fractionation for mutagenicity and chemical analysis of diesel exhaust particles. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2013;54(9):719–30 36.
- [86] Umbuzeiro GA, Franco A, Martins MH, Kummrow F, Carvalho L, Schmeiser HH et al. Mutagenicity and DNA adduct formation of PAH, nitro-PAH, and oxy-PAH fractions of atmospheric particulate matter from São Paulo, Brazil. *Mutation Research*. 2008;652(1):72–80.
- [87] Nie J, Beyea J, Bonner MR, Han D, Vena JE, Rogerson P et al. Exposure to traffic emissions throughout life and risk of breast cancer: the Western New York Exposures and Breast Cancer (WEB) study. *Cancer Causes and Control*. 2007;18(9):947–55.
- [88] Mordukhovich I, Beyea J, Herring AH, Hatch M, Stellman SD, Teitelbaum SL et al. Vehicular traffic-related polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and breast cancer incidence: the Long Island Breast Cancer Study Project (LIBCSP). *Environmental Health Perspectives*. 2016;124(1):30–8.
- [89] Heck JE, Park AS, Qiu J, Cockburn M, Ritz B. An exploratory study of ambient air toxics exposure in pregnancy and the risk of neuroblastoma in offspring. *Environmental Research*. 2013;127:1–6.
- [90] Heck JE, Park AS, Qiu J, Cockburn M, Ritz B. Risk of leukemia in relation to exposure to ambient air toxics in pregnancy and early childhood. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2014;217(6):662–8.
- [91] Heck JE, Park AS, Qiu J, Cockburn M, Ritz B. Retinoblastoma and ambient exposure to air toxics in the perinatal period. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. 2015;25(2):182–6.
- [92] von Ehrenstein OS, Heck JE, Park AS, Cockburn M, Escobedo L, Ritz B. In utero and early-life exposure to ambient air toxics and childhood brain tumors: a population-based case-control study in California, USA. *Environmental Health Perspectives*. 2016;124(7):1093–9.
- [93] Symanski E, Tee Lewis PG, Chen TY, Chan W, Lai D, Ma X. Air toxics and early childhood acute lymphocytic leukemia in Texas: a population based case control study. *Environmental Health*. 2016;15(1):70.
- [94] Vena JE. Lung cancer incidence and air pollution in Erie County, New York. *Archives of Environmental Health*. 1983;38(4):229–36.
- [95] Armstrong B, Hutchinson E, Unwin J, Fletcher T. Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review and meta-analysis. *Environmental Health Perspectives*. 2004;112(9):970–8.
- [96] Bosetti C, Boffetta P, La Vecchia C. Occupational exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons, and respiratory and urinary tract cancers: a quantitative review to 2005. *Annals of Oncology*. 2007;18(3):431–46.
- [97] Rota M, Bosetti C, Boccia S, Boffetta P, La Vecchia C. Occupational exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons and respiratory and urinary tract cancers: an updated systematic review and a meta-analysis to 2014. *Archives of Toxicology*. 2014;88(8):1479–90.
- [98] Singh A, Kamal R, Ahamed I, Wagh M, Bihari V, Sathian B et al. PAH exposure-associated lung cancer: an updated meta-analysis. *Occupational Medicine (London)*. 2018;68(4):255–61.

- [99] Kowalska M, Wegierek-Ciuk A, Brzoska K, Wojewodzka M, Meczynska-Wielgosz S, Gromadzka-Ostrowska J et al. Genotoxic potential of diesel exhaust particles from the combustion of first- and second-generation biodiesel fuels: the FuelHealth project. *Environmental Science and Pollution Research*. 2017;24(31):24223–34.
- [100] Nie J, Beyea J, Bonner MR, Han D, Vena JE, Rogerson P et al. Exposure to traffic emissions throughout life and risk of breast cancer: the Western New York Exposures and Breast Cancer (WEB) study. *Cancer Causes and Control*. 2007;18(9):947–55.
- [101] Parikh PV, Wei Y. PAHs and PM_{2.5} emissions and female breast cancer incidence in metro Atlanta and rural Georgia. *International Journal of Environmental Health Research*. 2016;26(4):458–66.
- [102] Large C, Wei Y. Geographic variations in female breast cancer incidence in relation to ambient air emissions of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science and Pollution Research International*. 2017;24(21):17874–80.
- [103] Stults WP, Wei Y. Ambient air emissions of polycyclic aromatic hydrocarbons and female breast cancer incidence in US. *Medical Oncology*. 2018;35(6):88.
- [104] Agha MM, Williams JI, Marrett L, To T, Zipursky A, Dodds L. Congenital abnormalities and childhood cancer. *Cancer*. 2005;103(9):1939–48.
- [105] Shrestha A, Ritz B, Wilhelm M, Qiu J, Cockburn M, Heck JE. Prenatal exposure to air toxics and risk of Wilms' tumor in 0- to 5-year-old children. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 2014;56(6):573–8.
- [106] Armstrong B, Hutchinson E, Fletcher T. Cancer risk following exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a meta-analysis. HSE Books; 2003.
- [107] Castaño-Vinyals G, Cantor KP, Malats N, Tardon A, Garcia-Closas R, Serra C et al. Air pollution and risk of urinary bladder cancer in a case-control study in Spain. *Occupational and Environmental Medicine*. 2008;65(1):56–60. 18
- [108] Scheurer ME, Danysh HE, Follen M, Lupo PJ. Association of traffic-related hazardous air pollutants and cervical dysplasia in an urban multiethnic population: a cross-sectional study. *Environmental Health*. 2014;13(1):52.
- [109] Matsumoto Y, Sakai S, Kato T, Nakajima T, Satoh H. Long-term trends of particulate mutagenic activity in the atmosphere of Sapporo. 1. Determination of mutagenic activity by the conventional tester strains TA98 and TA100 during an 18-year period (1974–1992). *Environmental Science and Technology*. 1998;32(18):2665–71.
- [110] Air quality guidelines for Europe, 2nd edition. Copenhagen: World Health Organization Regional Office for Europe; 2000.
- [111] European Food Safety Agency. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food: scientific opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA Journal*. 2008;724:1–114.
- [112] Bostrom CE, Gerde P, Hanberg A, Jernstrom B, Johansson C, Kyrklund T et al. Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environmental Health Perspectives*. 2002;110:451– 88.
- [113] Development of a relative potency factor (RPF) approach for polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) mixtures: in support of summary information on the Integrated Risk Information System (IRIS). EPA/635/R-08/012A. Washington (DC): United States Environmental Protection Agency; 2010.

- [114] State of the art report on mixture toxicity: final report. Brussels: European Commission; 2009.
- [115] Relating to arsenic, cadmium, mercury, nickel and polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air. Directive 2004/107/EC. Brussels: European Council; 2004.
- [116] European Environment Agency. Air quality in Europe: 2020 report. European Environment Agency Report No. 9/2020. Luxembourg: Publications Office of the 6 European Union; 2020
- [117] Pott F, Heinrich U. Relative significance of different hydrocarbons for the carcinogenic potency of emissions from various incomplete combustion processes. IARC Scientific Publications. 1990;104:288–97.
- [118] Mordukhovich I, Beyea J, Herring AH, Hatch M, Stellman SD, Teitelbaum SL et al. Vehicular traffic-related polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and breast cancer
- [119] EPA Risk Assessment Forum Technical Panel. Supplementary guidance for conducting health risk assessment of chemical mixtures. Washington (DC): United States Environmental Protection Agency; 2000.
- [120] Jia Y, Stone D, Wang W, Schrlau J, Tao S, Simonich SL. Estimated reduction in cancer risk due to PAH exposures if source control measures during the 2008 Beijing Olympics were sustained. *Environmental Health Perspectives*. 2011;119(6):815–20.
- [121] Layshock J, Simonich SM, Anderson KA. Effect of dibenzopyrene measurement on assessing air quality in Beijing air and possible implications for human health. *Journal of Environmental Monitoring*. 2010;12(12):2290–8.
- [122] Von Ehrenstein OS, Heck JE, Park AS, Cockburn M, Escobedo L, Ritz B. 2016. In Utero and early-life exposure to ambient air toxics and childhood brain tumors: a population-based case-control study in California, USA. *Environ Health Perspect* 124:1093-1099;
- [123] Parada H Jr, Steck SE, Bradshaw PT, Engel LS, Conway K, Teitelbaum SL et al. Grilled, barbecued, and smoked meat intake and survival following breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2017;109(6):djw299.
- [124] Menichini E, Merli F. Dibenzopyrenes, other PAHs with molecular weight 302, and selected carcinogenic PAHs seldom determined: identification and one-year 28 quantification in urban air. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 2012;92(14):1609–25.
- [125] Jarvis IW, Dreij K, Mattsson A, Jernstrom B, Stenius U. Interactions between PAHs in complex mixtures and implications for cancer risk assessment. *Toxicology*. 2014;321:27–39.
- [126] Flowers L, Rieth SH, Cogliano VJ, Foureman GL, Hertzberg R, Hofmann EL et al. Health assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures: current practices and future directions. *Polycyclic Aromatic Compounds*. 2002;22(3–4):811–21.
- [127] Albert RE. Comparative carcinogenic potencies of particulates from diesel engine exhausts, coke oven emissions, roofing tar aerosols and cigarette smoke. *Environmental Health Perspectives*. 1983;47:339–41.
- [128] NTP research concept: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). In: Board of Scientific Counselors: summary minutes, December 2012. United States National Toxicology Program; 2012.

- [129] Dreij K, Mattsson Å, Jarvis IWH, Lim H, Hurkmans J, Gustafsson J et al. Cancer risk assessment of airborne PAHs based on in vitro mixture potency factors. *Environmental Science and Technology*. 2017;51(15):8805–14.
- [130] Jarvis IW, Bergvall C, Bottai M, Westerholm R, Stenius U, Dreij K. Persistent activation of DNA damage signaling in response to complex mixtures of PAHs in air PM. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2013;266(3):408–18.
- [131] Audebert M, Zeman F, Beaudoin R, Pery A, Cravedi JP. Comparative potency approach based on H2AX assay for estimating the genotoxicity of PAHs. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2012;260(1):58–64.
- [132] Khoury L, Zalko D, Audebert M. Validation of high-throughput genotoxicity assay screening using gH2AX in-cell western assay on HepG2 cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2013;54(9):737–46.
- [133] Tsamou M, Jennen DG, Claessen SM, Magkoufopoulou C, Kleinjans JC, van Delft JH. Performance of in vitro gamma H2AX assay in HepG2 cells to predict in vivo genotoxicity. *Mutagenesis*. 2012;27(6):645–52.
- [134] Terry PD, Rohan TE. Cigarette smoking and the risk of breast cancer in women: a review of the literature. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 2002;11(10 Pt 1):953–71.

DC 5.2 Odhad zdravotních dopadů – vybrané ultrajemné částice

1. Hlavní a dílčí cíle

Hlavním cílem tohoto úkolu je získat komplexní a aktuální informace o současném stavu poznání o zdravotních dopadech ultrajemných částic (UFP). Tato fáze má sloužit jako východisko pro posouzení možností odhadu zdravotních dopadů ultrajemných částic, který se doposud neprovádí.

V předchozí etapě reportované v květnu 2022 byla provedena charakteristika nejvýznamnějších existujících poznatků a závěrů z literárních podkladů získaných rešeršní činností. V této etapě jsou informace v jednotlivých subkapitolách doplněny a rozšířeny a přidány další specifické subkapitoly na základě studia dalších odborných publikací.

Dále je doplněna samostatná kapitola, která poskytuje přehled o mezinárodních projektech, které se zabývají měřením a hodnocením dopadů ultrajemných částic. Jde o projekty, ukončené i probíhající, ve kterých byla nebo je spoluúčast českých partnerů v řešitelském týmu.

2. Výsledky projektu

Pro dosažení cíle a získání maximálně relevantních dat bylo, na základě připraveného souboru klíčových slov a slovních spojení, který zohledňuje rozsah a podrobnost požadovaných informací o vlivu ultrajemných částic na zdraví, provedeno vyhledání relevantních odkazů publikovaných odborných prací. Všechny odkazy byly probrány, přeloženy a zhodnoceny podle přínosu pro základní cíl.

Většina konzistentních souvislostí byla identifikována pro krátkodobé účinky na plicní/systémový zánět, variabilitu srdeční frekvence a na krevní tlak. Zhruba 35% studií bylo realizováno v Evropě a Americe, o něco málo méně, cca 30% pocházelo z Asie, zejména Číny, Indie a Japonska.

Zpracování rešerše se soustřeďuje na jednotlivé typy dopadů a dosažení závěrů z hlediska současného stupně poznání o daných účincích a možnostech hodnocení.

2.1. Úvod

Znečištění ovzduší aerosolem je spojováno s různými nepříznivými účinky na zdraví, včetně respiračních, kardiovaskulárních a neurologických onemocnění a ovlivnění vývoje v raném dětství (8).

Škodlivé účinky různých kategorií PM se překrývají, protože se překrývají odpovídající velikosti; PM₁₀, které zahrnují všechny menší částice, budou mít podobné účinky jako menší částice, i když účinky lze rozlišit při zohlednění hmotnosti.

Jednou z důležitých frakcí aerosolu jsou částice frakce PM_{0,1}, označované jako ultrajemné částice (UFP), které jsou definovány svým aerodynamickým průměrem do 100 nm. Jsou považovány za zvláště nebezpečné pro lidské zdraví. Předpokládá se, že mohou významně přispívat k rozvoji řady respiračních a kardiovaskulárních onemocnění, jako je chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN) a ateroskleróza, ale jejich podíl na těchto dopadech na zdraví není přesně popsán a hlavně není kvantifikován. Údaje o expozici jsou stále nedostatečné a mechanismy, které jsou příčinou negativních zdravotních následků, nejsou zcela objasněny.

UFP mají větší poměr povrchu k hmotnosti než větší částice. Výsledkem je větší relativní plocha povrchu menších částic, které adsorbují relativně větší množství toxických znečišťujících látek (např. oxidujících plynů, jako ozónu, oxidů dusíku, organických sloučenin a přechodných kovů). Velký povrch je důležitý, protože povrch pevných částic (např. atomů nebo molekul) interaguje s buněčnými membránami a subcelulárními strukturami, což vede ke specifickým biologickým a toxikologickým reakcím. Malá velikost a velký specifický povrch jim dávají jedinečné vlastnosti, které mohou způsobit nežádoucí účinky (60). Neexistuje jasná představa o tom, které vlastnosti jsou pro UFP nejdůležitější, ani shoda na tom, které vlastnosti (např. hmotnost, počet, velikost nebo plocha povrchu) jsou nejvhodnější dávkovou metrikou (tj. informací o skutečné dávce na cílové buňky) pro identifikaci expozice UFP.

Pozn: Termín „ultrajemné“ bývá používán k popisu částic, které nebyly záměrně vyrobeny, ale jsou náhodnými produkty procesů zahrnujících průmyslové, spalovací, svařovací, automobilové, naftové, půdní a vulkanické činnosti. Termín „nanočástice“ je vyhrazen pro částice velikostně stejné, ale záměrně vyráběné obvykle se specifickým určením, jako jsou nanotrubičky, nanovlákna, nanodrátka atd.

Problém často spočívá v:

- měření počtu částic a v hodnocení/interpretaci expozice UFP

Hodnocení expozice UFP je podstatně složitější než hodnocení expozice u hmotnostních koncentrací částic PM_{2,5} nebo PM₁₀. Důvodem je značná prostorová a časová variabilita koncentrací UFP, až řádově se zvyšujících nad pozadí, během několika sekund a během několika metrů, když se lidé přibližují ke zdrojům znečištění nebo od nich, nebo se pohybují mezi různými mikroprostředími. Tyto velké rozdíly v koncentraci UFP v různých prostředích mohou mít význam ve vztahu k hodnocení expozice člověka a epidemiologickým studiím. Vliv časové aktivity a pohybu lze snadno vynechat použitím průměrovaných výsledků, a střední koncentrace v časově zprůměrovaném období tedy nemusí odrážet všechny aspekty vzorců expozice populace.

Ve většině studií jsou UFP hodnoceny jako koncentrace počtu částic (PNC) na jednotku objemu, další používanou metrikou je plocha povrchu částic deponovaných v plicích. UFP mají vysoké procento povrchových molekul na hmotnost a povrchová plocha částic vykazuje dobrou korelaci se schopností generovat reaktivní oxidační látky (ROS). Typická koncentrace $PM_{0,1}$ ve venkovských oblastech bývá nacházena v rozmezí 2 až 3 000 částic/cm³, zatímco koncentrace u komunikace může být i dvacetkrát větší s průměrnou globální koncentrací kolem 10 000/cm³ (2). Velký počet $PM_{0,1}$ se rychle zmenšuje koalescencí/agregací do větších částic a atmosférickým rozptylem, což vede k místním koncentracím nebo „hotspotům“ v blízkosti dopravy nebo míst průmyslové výroby. Je paradoxní, že počet částic $PM_{0,1}$ rychle klesá koalescencí, přesto zůstávají ve vzduchu po delší dobu a mohou cestovat na jiné kontinenty. Špičkové koncentrace emisí z dopravy se vyskytují v blízkosti krajnic a tyto úrovně jsou často více než desetkrát vyšší než pozadí. Koncentrace se vrací k pozadovým hodnotám zhruba ve vzdálenosti 500 m od zdroje (3). Vysoké koncentrace jsou spojeny s mnoha různými podmínkami, jako je vysoká vlhkost, nízký pohyb vzduchu, zvýšený počet dieselových vozidel, roční období a zrychlení dopravy po zastavení (1). Uvádí se, že zlepšení technologie paliva a motoru a použití katalyzátorů snížilo hmotnost PM a oxidu uhelnatého (CO) z výfukových plynů automobilů, ale zvýšilo počet a toxicitu $PM_{0,1}$ (4,5). Ke zvýšené expozici obyvatel tak dochází zejména v oblastech významně zatížených dopravou a v blízkosti dalších zdrojů. Vysoké expozice UFP se vyskytují také na některých typech pracovního prostředí. Jsou spojeny s vysokými teplotami nebo spalováním. Nejvyšší koncentrace $PM_{0,1}$ se nacházejí při svařování nebo u provozované vysoké pece, ve strojárnách, v prvovýrobě kovodělného průmyslu a také v profesích souvisejících s dopravou a restauracích, s koncentracemi $0,7\text{--}4,7 \times 10^6$, tj. 60 – 450krát vyššími než pozadové úrovně (1).

Rozdíly v počtu $PM_{0,1}$ v závislosti na ročním období a místě byly zvýrazněny evropskou studií, která zjistila, že Augsburg, Helsinky a Stockholm měly průměrné roční koncentrace částic mezi 10 000 a 11 000 cm⁻³, ale zimní koncentrace byly téměř dvojnásobné (mezi 10 000 a 20 000 cm⁻³) a letní koncentrace byly přibližně poloviční (mezi 5 000 a 6 000 částicemi cm⁻³). Řím a Barcelona, které mají větší znečištění ovzduší, měly průměrné roční koncentrace $PM_{0,1}$ více než 43 000 a 39 000 cm⁻³, ale zimní koncentrace na úrovni 100 000 cm⁻³. Tato studie také hodnotila denní a týdenní cykly, s denními maximálními hladinami mezi 7:00 a 10:00 na většině míst. V neděli dosahovaly měřené hodnoty 2/3 úrovně ve srovnání s všedním dnem (6). Proměnlivost a kolísavá povaha expozice ztěžuje monitorování, měření jejich zdravotních účinků a stanovování norem. Hodinová průměrná expozice $PM_{0,1}$ za rok se liší od expozice $PM_{2,5}$ tím, že distribuce $PM_{0,1}$ je více ovlivněná jejich rychlejším snižováním a rozptylem. Větší denní trend pro $PM_{0,1}$ vyplývá ze změn emisí z vozidel. $PM_{0,1}$ a $PM_{2,5}$ nejsou dobře korelovány; bylo zjištěno, že poměr počtu částic k hmotnosti je nejvyšší na silnicích (ukazuje na výskyt $PM_{0,1}$) a nejnižší ve znečištěných městech (ukazuje na výskyt $PM_{2,5}$). Regulace $PM_{2,5}$ nemusí významně snížit $PM_{0,1}$ (7).

Epidemiologické dlouhodobé a krátkodobé studie zkoumající souvislost mezi expozicí vnějším částicím a účinky na zdraví jsou z velké části založeny na jediném monitorovacím místě umístěném někde, kde se měří koncentrace městského pozadí. Proto je v těchto studiích ústřední otázkou vědět, jak dobře jsou koncentrace částic měřené na jedné měřicí stanici reprezentativní pro širší městskou oblast. Studie v městských oblastech ukázaly, že prostorová variabilita $PM_{2,5}$ a PM_{10} je obecně malá a časová korelace měřená na různých místech je vysoká. Ve vědecké komunitě proto panuje shoda, že pozadovou stanici měřící hmotnostní koncentrace $PM_{2,5}$ a PM_{10} lze považovat za reprezentativní pro větší městské oblasti. Naproti tomu hodnocení expozice UFP je stále v počáteční fázi ve srovnání s hodnocením expozice $PM_{2,5}$ a PM_{10} . Skutečnost, že důkazy příčin a následků byly nalezeny v řadě studií založených na monitorování městského prostředí na jednom místě, znamená, že tento přístup může být také použitelný. Velmi relevantním omezením je skutečnost, že ve stejném městě může den ovlivněný intenzivním fotochemickým znečištěním způsobujícím vysokou míru FNM přispívat k vyšším koncentracím UFP než ve dnech, kdy je většina UFP způsobena znečištěním spojeným s dopravou. Toto omezení platí také pro $PM_{2,5}$ a PM_{10} (např. dny ovlivněné pouštním prachem ve srovnání s dny ovlivněnými jen místním znečištěním), avšak rozdíly mezi městskými regiony týkající se podílu UFP odvozeného z FNM / dopravy / spalování v domácnostech/ostatních mají větší dopad na denní a roční úrovně a velikost UFP než v případě hmotnosti částic.

Koncepční návrh pro hodnocení expozice pro epidemiologické studie by měl být takový, aby byla snadno měřitelná, univerzálně použitelná, zmenšující nejistoty, ale přesto bylo možné přenést ji na subjekty, které pak můžeme měřit, modelovat a také regulovat (61).

- časové variabilitě a v krátkodobosti studií)

Časové korelace mezi různými monitorovacími místy v rámci jedné městské oblasti jsou ovlivňovány běžnými denními vzorci a meteorologickými faktory, a proto mohou být měření na těchto místech časově vysoce korelována, i když mezi místy existují výrazné rozdíly v absolutních úrovních (vysoké prostorové variace). Vysoké časové korelace mezi monitorovacími místy naznačují, že jedno (nebo několik) pevných monitorovacích míst může být adekvátní pro odhad expozice celé venkovní populace v krátkodobých studiích. Některé studie časové korelace mezi místy uváděly vysoké korelační koeficienty pro hodinová průměrná měření mezi místy, jiné studie zjistily nižší korelace mezi různými monitorovacími místy. Kvůli této variabilitě mohou měření na jednom pevném monitorovacím místě ve městě (centrální místo) reprezentovat jiná místa, ale nemusí. Neexistuje obecná shoda, že existuje časová korelace mezi koncentracemi UFP měřenými na různých monitorovacích místech. Vzhledem k tomu, že časové korelace UFP mezi různými monitorovacími místy jsou tak specifické pro město, je třeba tyto korelace pečlivě vyhodnotit při navrhování studií v konkrétní studijní oblasti a při podávání zpráv a interpretaci výsledků studie. Rozdíly mezi úrovněmi koncentrace a velikostí UFP v dopravních hotspotech a městských / příměstských oblastech jsou známé a lze je

vyhodnotit pro konkrétní města. Také modelování zdrojových receptorů může umožnit získání úrovně UFP, které je možno přisoudit různým zdrojovým příspěvkům (61).

- **prostorové variabilitě (dlouhodobé studie)**

Vzhledem k výrazným gradientům koncentrací UFP v blízkosti zdrojů, jako jsou hlavní silnice, mohou v jednom městě existovat značné prostorové rozdíly v UFP. Ve skutečnosti existují některé studie uvádějící výrazné rozdíly v absolutních koncentracích UFP měřených v celé městské oblasti. Prostorová variabilita absolutních koncentrací ve městech byla u UFP značně vyšší než u $PM_{2,5}$ a PM_{10} . Proto použití údajů z centrálního místa pro průřezové studie (studie dlouhodobých účinků) nemusí být vhodné a použitelnost by měla být předběžně prokázána nebo by měla být zlepšena, aby bylo možné studii přiřadit přesnější úrovně expozice. Větší chyba měření může omezit statistickou sílu epidemiologických studií o dlouhodobých účincích UFP na detekci skutečných asociací, které mohou existovat. Dlouhodobé studie by mohly zvážit různé přístupy k hodnocení expozice, například modelování, aby bylo možné lépe charakterizovat venkovní expozici populace nebo zvýšit počet monitorů, aby byla pokryta prostorová variabilita ve městě (61).

2.2. Hodnocení vlivu na zdraví

Účinky UFP na zdraví byly diskutovány během posledních tří desetiletí (62). První epidemiologická studie ukazující krátkodobé účinky okolního UFP pocházela z malé panelové studie astmatiků provedené v německém Erfurtu v 90. letech (21). Ukázalo se, že počet ultrajemných částic byl spojen se snížením funkce plic v souladu s kumulativní odpovědí během několika dní. Tato asociace byla nezávislá na koncentraci jemných částic a dalších znečišťujících látkách. Od té doby bylo publikováno přibližně 200 dalších studií.

Systematické recenze, které hodnotily publikované práce z let 1997 až 2017 (9; 31) dokumentovaly rostoucí počet studií. Společně identifikovaly 174 studií a kvalitativně je diskutovaly. Většina studií zkoumala krátkodobý dopad UFP nebo koncentrací celkového počtu částic (PNC), avšak s heterogenními výsledky (9; 31). Od té doby dále pokračuje výzkum krátkodobých účinků UFP a PNC na zdraví. Publikované studie se nejčastěji týkají úmrtnosti, plicních funkcí a krevních biomarkerů, ojediněle i srdečních funkcí, přičemž všechny zvažovaly expozice UFP během několika hodin nebo dnů. Navzdory rostoucímu množství publikovaných prací chybí kvantitativní metaanalýzy. Důvodem může být to, že použitý přístup k hodnocení expozice i návrhy studií z hlediska metodického přístupu jsou napříč studii velmi heterogenní. Jeden nedávný pokus Li a spoluautorů (63) však ukazuje, že kvantitativní metaanalýzy skutečně přinášejí poznatky, které posunou naše chápání. Proto se zdá být načase přehodnotit celkové důkazy a zvážit různé koncepty, jako jsou analýzy časových řad, případové studie, panelové studie a kvazi experimenty využívající systematický přístup.(61)

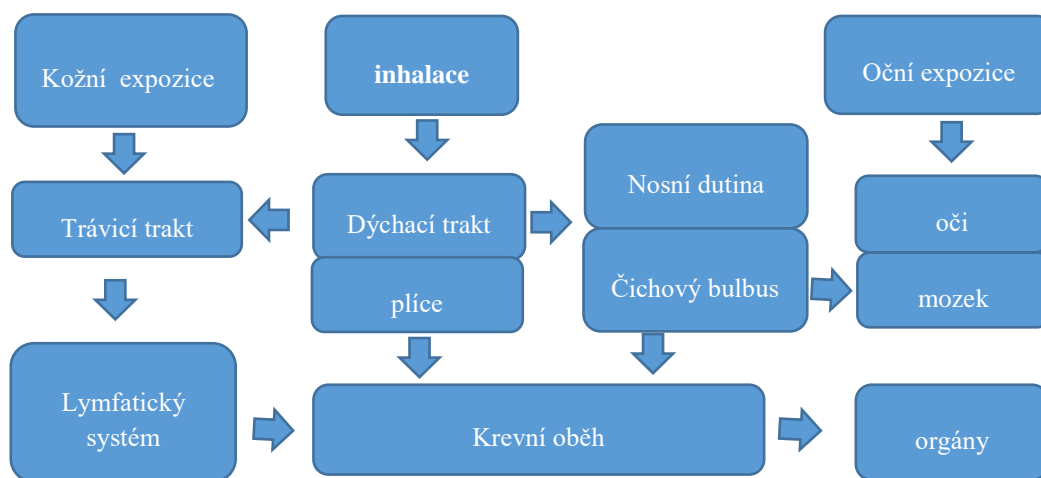
Jednou z hlavních výzev je posouzení expozice ultrajemným částicím. K provádění epidemiologických studií jsou zapotřebí vyhrazené měřicí kampaně, protože UFP se stále ještě běžně neměří. Teprve nedávno došlo k pokroku při určování prostorového rozložení, aby bylo možné vyšetřovat dlouhodobé účinky na zdraví. V důsledku toho byly nedávno zveřejněny další důkazy o dlouhodobých účincích UFP na zdraví (64; 65). Tyto studie naznačují souvislost mezi koncentrací počtu UFP a kardiovaskulární morbiditou. Důležité je, že autoři dokázali prokázat, že zdravotní dopad UFP byl nezávislý na jemných částicích a koncentracích oxidu dusičitého.

Zatímco pro určení dopadu UFP na zdraví se jeví relevantní kratší průměrování než 24 hodin, z experimentálních studií chybí údaje o dlouhodobé expozici UFP. V současné době není známo, zda (opakované) vrcholové expozice jsou relevantnější než kontinuální expozice nižšímu PNC, i když se stejnou střední dávkou. Tato otázka může být obzvláště důležitá ve vztahu k vývojovým problémům (těhotenství, vývoj plodu a dítěte), kde jediná vysoká expozice během citlivého období může mít trvalé účinky, zatímco mírné, akutní poruchy u dospělých mohou mít dlouhodobé následky. Tyto studie proto začínají vyplňovat velkou mezeru ve výzkumu (64).

Ultrajemné částice mohou přispívat ke zdravotním účinkům částic (PM) z řady důvodů. Ve srovnání s většími částicemi mají UFP vyšší předpokládanou plicní depozici, větší potenciál vyvolat plicní zánět, větší povrch a zvýšenou oxidační kapacitu. UFP mají také potenciál procházet epitelem a vstupovat do systémové cirkulace. Kromě toho mohou UFP s větším

povrchem nést velké množství adsorbovaných znečišťujících látek, oxidačních plynů, organických sloučenin a přechodných kovů (10).

Předpokládané zdravotní účinky UFP zahrnují kardiovaskulární a respirační účinky, nemocnost a úmrtnost, vyvolání lokálního plicního a systémového zánětu a oxidativního stresu a nepříznivé účinky na mozek (CNS) a metabolismus (9). Vyšší účinnost plicní depozice UFP s větším povrchem a na ně navázanými přechodnými kovy je považována za důležitou při kardiopulmonální toxicitě. Existují určité důkazy, že vdechované pevné částice pod přibližně 300 nm mohou vstoupit z alveol do krevního řečiště, přemístit se do orgánů, proniknout bariérou mezi krví a orgány a vstoupit do buněk, buněčných organel a dokonce i do buněčného jádra. Ne všechny studie však dokázaly takový pohyb UFP prokázat. Studie zkoumají roli ultrajemných látek při indukci zánětu dýchacích cest; expresi leukocytárních a endoteliálních adhezních molekul v krvi; změně srážlivosti krve a změně elektrické aktivity srdce. Tyto příhody mohou vést k exacerbaci základního kardiopulmonálního onemocnění. Například zánět dýchacích cest může aktivovat endotel a cirkulující leukocyty a vyvolat systémovou odpověď akutní fáze s přechodnou hyperkoagulabilitou; to by mohlo vysvětlit epidemiologické souvislosti mezi expozicí znečišťujícím látkám a kardiovaskulárními příhodami (11).



Vstup částic do organismu, podle: The possible penetration routes of airborne UFPs. (R. Chen et al. / Biochimica et Biophysica Acta 1860 (2016) 2844–2855)

Krátkodobé účinky

- Inhalační expozice a vliv na respirační ústrojí

Dýchací ústrojí je hlavní expoziční cestou pro částice PM_{0,1}. UFP mají ve srovnání s většími částicemi jedinečné fyzikální a chemické vlastnosti. Tyto vlastnosti mohou vést k rozdílným účinkům na zdraví (47-58). Velikost částic je hlavním faktorem určujícím podíl vdechovaných částic, které se usazují v různých oblastech dýchacího traktu a jsou z nich odstraňovány (59).

Oberdorster se spolupracovníky provedli průkopnickou prací, aby ilustrovali charakter depozice UFP v dýchacích cestách (60). Jako dominantní součást dýchacího systému mají plíce největší epiteliální povrch lidského těla v přímém kontaktu s vnější atmosférou. Obsahují dvě různé části: dýchací cesty a alveolární strukturu. Pro frakční ukládání vdechovaných částic v různých oblastech lidského dýchacího traktu za podmínek dýchání nosem během klidu existuje zavedený matematický model (International Commission on Radiological Protection 1994). Významné množství UFP určité velikosti se ukládá buď v nasofaryngeální, tracheobronchiální nebo alveolární oblasti dýchacího traktu. Účinnost depozice UFP v alveolární oblasti je poměrně vysoká, nejvyšší je pro částice 20 nm (~50 %), zatímco větší částice v rozsahu 100 nm až 2,5 μm vykazují ukládání podstatně menší (10 % – 20 %). Vysoká účinnost depozice zvyšuje možnost toxických účinků na plíce po průniku do alveolárního epitelu a do krevního řečiště (77). Přesné depoziční dávky vzdušných UFP lze odhadnout pomocí modelu dozimetrie více cest částic (MPPD). Ten byl původně vyvinut pro odhad dávky v dolním dýchacím traktu na základě depozice v závislosti na velikosti částic se skutečnými anatomickými údaji (78,79). Pomocí tohoto modelu Manigrasso et al. odhadli, že $6,6 \times 10^{10}$ částic (v rozsahu velikosti částic od 5,6 do 560 nm) se každou hodinu ukládá do dýchacího systému osoby v blízkosti dopravy se sekvencí krátkodobých špičkových expozic. Přesné číslo depozice během 1 hodiny v oblasti hlavy, tracheobronchiální a alveolární oblasti je $1,29 \times 10^{10}$, $1,88 \times 10^{10}$ a $3,45 \times 10^{10}$ částic (84). Jednoznačná míra depozice v dýchacích cestách pomůže vyhodnotit riziko pro lidské zdraví u osob žijících ve znečištěném prostředí, i když existují obrovské variace scénářů expozice vyplývající z různých osobních životních stylů a různých životních mikroprostředí. (80).

Jedním z hlavních obranných mechanismů dýchacích cest proti aerosolovým částicím je mukociliární aparát, který zajišťuje samočisticí funkci dýchacích cest, tzv. mukociliární clearance. Částice jsou zachytávány řasinkami, stávají se součástí hlenu a jsou pohybem řasinek transportovány vzhůru k ústům, kde jsou vykašlány nebo spolknuty. U mnoha plicních onemocnění je ale mukociliární funkce zhoršena. Ciliární dysfunkce je běžná u kuřáků a pacientů s infekcemi dýchacích cest a může být příčinou větší zranitelnosti těchto jedinců vůči znečištění ovzduší.

Testy na zvířatech ukázaly, že tělo nemá účinné mechanismy pro odstranění UFP po migraci do plicní alveolární oblasti (81, 82). Na rozdíl od vysoké účinnosti ukládání v alveolárních oblastech se zdá, že clearance UFP z plic je pomalejší a méně úplná než u větších částic. Möller a kol. ukázali, že u vdechovaných částic o velikosti 100 nm bylo 24 hodin po inhalační expozici člověka jen malé množství odstraněno pomocí clearance, částice byly většinou zadrženy na periférii plic a v dýchacích cestách (83). Vysoká depozice a nízká clearance mohou vést k akumulaci v alveolech při scénáři dlouhodobé expozice, což zvyšuje šance na interakci s buňkami a dalšími biologickými složkami v plicích.

Mechanismus účinků UFP na lidské zdraví lze vysvětlit oxidativním buněčným poškozením, včetně vrozené imunity, adaptivní imunity a reaktivních forem kyslíku (14). Schopnost UFP

spouštět oxidační stres je spojena s jejich vlastnostmi generujícími ROS, které vyplývají z jejich specifických fyzikálně-chemických vlastností, které jsou vysoce závislé na jejich zdroji. Například v městském prostředí se UFP často vyznačují uhlíkovým jádrem pokrytým přechodnými kovy a organickými uhlovodíky. Jako takové mohou být ROS vytvořeny z jejich vysokého specifického povrchu, Fentonových reakcí a chinonových redoxních cyklických procesů (34, 37). ROS mohou být generovány z buněčných zdrojů v plicích i mimo ně, včetně oxidativního vzplanutí aktivovaných makrofágů a neutrofilů a enzymů NOX v epitelálních a endotelálních buňkách (38). V důsledku toho mohou UFP modulovat koncentrace intracelulárního vápníku a aktivovat transkripční faktory, což vede ke zvýšené produkci prozánětlivých cytokinů (39, 40). UFP mohou zhoršit zánět plic související s bakteriálními endotoxiny, ačkoli nejvyšší koncentrace těchto prozánětlivých lipopolysacharidů se nachází převážně v hrubých částicích (41), měřeno také u frakcí menší velikosti (42). ROS generující a zánětlivé vlastnosti inhalovaných UFP se také považují za hnací sílu genotoxických účinků v plicích prostřednictvím tvorby oxidačních lézí DNA (43, 44). Kromě toho mohou UFP vnést mutagenní sloučeniny hluboko do plic, kde v závislosti na jejich biologické dostupnosti mohou způsobit genotoxicitu tvorbou objemných lézí DNA (45,46).

Častým cílem realizovaných studií je zkoumání vlivu ultrajemných částic na projevy astmatu, na výskyt běžných akutních i chronických respiračních onemocnění. Ve studii prováděné v letech 2016 až 2018 v Šanghaji v Číně byl zkoumán vztah mezi denními daty o UFP a akutními návštěvami pro hlavní respirační onemocnění (astma, zápal plic, bronchitida a infekce horních cest dýchacích) v 66 nemocnicích. Byly použity modely dvou polutantů kritérii znečišťujících látek v ovzduší a stratifikované analýzy podle pohlaví a věku. UFP byly spojeny se zvýšenými akutními návštěvami u všech respiračních onemocnění v kumulativních zpožděních do 2 dnů a 3 dnů. Největší riziko bylo zjištěno u kumulativních zpoždění (0-2 d), kdy byl mezikvartilní nárůst koncentrací UFP (1 800 částic/cm³) spojen s relativními riziky EDV v důsledku astmatu [1,35, 95% interval spolehlivosti (CI): 1,14–1,59], pneumonie (1,20, 95% CI: 1,04–1,38), bronchitidy (1,17, 95% CI: 1,03–1,33) a onemocnění HCD (1,14, 95% CI: 1,02–1,28). Tyto asociace se při kontrole kritérií znečišťujících látek v ovzduší téměř nezměnily a neexistovala žádná hranice, pod kterou by asociace nebyly přítomny. Silnější asociace byly u dětí ve věku 0-13 let. Krátkodobá expozice UFP může nezávisle zvýšit rizika EDV u astmatu, pneumonie, bronchitidy a exacerbací onemocnění horních cest dýchacích u dětí (16).

Statistický přístup nazvaný "meet-in-the-middle" byl použit pro necílenou metabolomiku ve dvou nezávislých studiích případů a kontrol vnořených do kohort astmatu dospělých (AOA) a kardio-cerebrovaskulárních onemocnění (CCVD). Výsledky autoři porovnali s cílem identifikovat společné i pro onemocnění specifické změněné metabolické dráhy. Novým zjištěním byla silná souvislost AOA s ultrajemnými částicemi (UFP; poměr šancí 1,80 [1,26, 2,55] na zvýšení o 5 000 částic/cm³) (15).

Dospělí jedinci, zdraví a astmatici byli v pokuse vystaveni kontrolované expozici UFP. Astmatici vykazovali vyšší depozici UFP než zdraví jedinci při dýchání v klidu. Nebyly zjištěny žádné významné účinky na symptomy, plicní funkce nebo markery zánětu dýchacích cest. Byly pozorovány jemné změny v podskupinách leukocytů a expresi adhezních molekul, které jsou však v souladu s účinky na vaskulární endoteliální funkci. Byly zjištěny také účinky na variabilitu srdeční frekvence a na srdeční repolarizaci u zdravých subjektů (17).

Některé studie našly asociaci mezi expozicí $PM_{0,1}$ výskytem kašle, sníženým maximálním výdechovým průtokem (21) a zvýšeným používáním léků (22) a hospitalizací u osob s astmatem (23), ale existuje také řada studií, které tyto nálezy nepotvrdily (24, 25).

- Účinky na metabolismus

Hlavním mechanismem depozice UFP je difúze, kde mohou být cílem všechny oblasti v plicích. Mechanismy účinků znečištění ovzduší na zdraví zahrnují oxidační stres a zánět. Ve skutečnosti jsou pevné částice (PM), zejména jemné ($PM_{2,5}$, $PM < 2,5 \mu m$) a ultrajemné ($PM_{0,1}$, $PM < 0,1 \mu m$) částice, ozon, oxidy dusíku a přechodné kovy, silnými oxidanty nebo schopnými vytvářet reaktivní formy kyslíku (ROS).

UFP jsou dostatečně malé, aby mohly přispět k translokaci přes buněčnou bariéru. Jakmile se částice přemístí do krevního řečiště, mohou dosáhnout jakéhokoli orgánu v těle včetně mozku. Zvláště zajímavá je vysoká účinnost depozice difúzí UFP v nosní oblasti, zejména u částic pod 15 nm, kvůli translokaci přes axony čichových neuronů do čichového bulbu centrálního nervového systému. Byl také pozorován přístup do centrálního nervového systému a ganglií prostřednictvím translokace podél axonů a dendritů neuronů. NSP pronikají kůží a šíří se vstřebáváním do lymfatických kanálů.

Za hlavní vylučovací orgány pro eliminaci částic v těle se považuje gastrointestinální trakt (pro všechny velikosti UFP) a ledviny (pro částice menší než 6 nm).

Některé z patogenních mechanismů, kterými mohou $PM_{0,1}$ přispívat k chronickým onemocněním, spočívají v jejich schopnosti vyvolávat zánět, oxidační stres a buněčnou smrt prostřednictvím molekulárních mechanismů, které zahrnují transkripční faktory. Epigenetické mechanismy včetně nekódující RNA (ncRNA) mohou rovněž přispívat k rozvoji chronických onemocnění spojených s expozicí $PM_{0,1}$ (12). Zdá se však, že náchylnost cílového orgánu k oxidačnímu poškození závisí také na jeho schopnosti regulovat ochranné vychytávací systémy (13).

- Vliv na kardiovaskulární ústrojí

Mnoho studií prokázalo souvislost mezi chronickým vystavením $PM_{0,1}$ a srdečním onemocněním. Ultrajemné částice ($< 0,18 \mu m$) zvyšují časnou aterosklerózu, částečně kvůli vysokému obsahu chemických látek redoxního cyklu a jejich schopnosti synergie se známými proaterogenními mediátory při podpoře tkáňového oxidačního stresu. Expozice ultrajemným částicím má také za následek změny protizánětlivé funkce plazmatického

HDL, které by mohly naznačovat systémové proaterogenní účinky (18). $PM_{0,1}$ také způsobují zvýšenou variabilitu srdeční frekvence, ztrátu sympatovagální rovnováhy a změněnou zánětlivou a hemostatickou funkci u exponovaných osob (26).

V rámci evropské spolupráce v projektu UFIREG byla provedena studie časových řad v pěti evropských městech. Projekt shromažďoval denní měření počtu UFPN a $PM_{2,5}$, aby prozkoumal okamžité a opožděné souvislosti s kardiopulmonální úmrtností a hospitalizacemi. Uvedli důkazy o pozitivních, ale ne signifikantních souvislostech mezi krátkodobými expozicemi UFPN (vyjádřené počtem) a úmrtností související s dýcháním při expozici UFPN před šesti dny. Respirační úmrtnost nebyla u $PM_{2,5}$ zvýšena. Kardiovaskulární mortalita nebyla zvýšena ani pro UFPN, ani pro $PM_{2,5}$. Ve dvou z pěti měst byla pozitivní souvislost mezi hospitalizacemi souvisejícími s dýcháním a UFPN; nicméně, asociace byla robustnější s $PM_{2,5}$ než UFPN (19).

Mezi upravenou mírou úmrtnosti a koncentrací okolních částic byla pozorována silná a konzistentní souvislost. Nejsilnější asociace jsou pozorovány u respiračních a srdečních úmrtí, zejména u starších osob. Znečištění ovzduší částicemi je také spojeno s exacerbacemi astmatu, zvýšenými respiračními příznaky, sníženou funkcí plic, zvýšeným užíváním léků a zvýšeným počtem hospitalizací (11).

- **Vlivy na centrální nervový systém**

O účincích PM na centrální nervový systém byla publikována řada článků a existuje velké množství prací na zvířatech o mechanismech, kterými $PM_{0,1}$ ovlivňují mozek a jeho vývoj. Cestou vstupu je vdechování a depozice na povrchu čichového bulbu. Důkazy ukazující, že cesta z nosu do mozku je potenciální cestou pro vstup nanočástic do mozku, byly objeveny u hlodavců a primátů (91 – 94). Nanočástice se mohou translokovat přes čichový bulbus a čichový nerv, poté jsou distribuovány v hippocampu, mozkové kůře a dokonce i mozečku. Do mozkových tkání se ve srovnání s počátečními expozičními dávkami ale dostává jen malý počet částic (95 – 97). Přímý důkaz pochází z inhalace elementárních ^{13}C UFP se středním průměrem poloměru (CMD) asi 35 nm.

Jde tak o další důležitou otázku pro hodnocení rizika příjmu UFP vdechováním. Tento způsob expozice může souviset s indukcí lidských neurodegenerativních onemocnění, tj. Alzheimerovy choroby a Parkinsonovy choroby (85 - 87). Na rozdíl od oblasti dolních dýchacích cest má nosní dutina velmi vysokou depozici větších částic $PM_{2,5}$. Extrémně menší částice UFP (menší než 10 nm) přitom skutečně mají podobně vysokou depozici v nosní dutině. To znamená, že UFP se přímo ukládají na čichovém bulbu a mohou se dostat do mozku simulací molekul pachu (88, 89). Čichová sliznice se nachází v horní oblasti nosní dutiny a je tvořena čichovým epitelem a pod ní ležící lamina cribrosa s funkcí ochrany neuronů čichových receptorů. Těsná blízkost nosní čichové sliznice a čichového bulbu vyžaduje jen krátkou vzdálenost k pokrytí neuronovým transportem. V nanotoxikologických studiích bylo jasně prokázáno, že vzduchem přenášené nanočástice se mohou ukládat v nosní dutině, jsou absorbovány čichovým epitelem a translokovány do mozku přes

hematoencefalickou bariéru (90). Translokované částice $PM_{0,1}$ lze nalézt v mozku během 4 – 24 hodin po inhalaci.

V současnosti je odhad dávky UFP na čichovém epitelu stále problémem ať už se jedná o člověka, nebo pokusná zvířata, např. potkany (99-101). Znalost informací o dávkování a rozdíly mezi různými druhy by mohly pomoci při extrapolaci účinků toxicity ze zkoušek na zvířatech v procesu odhadu rizik. Pro splnění tohoto úkolu byla použita výpočetní dynamika tekutin (CFD) k simulaci vzorů proudění vzduchu a kvantifikaci ukládání částic v nosní dutině. Garcia a kol. poskytl praktický způsob pro odhad dávek UFP na čichovém epitelu z číselné koncentrace. Zjistili také, že čichová dávka je komplexně závislá na velikosti částic, s vyššími čichovými dávkami u lidí v rozmezí velikosti částic 1–7 nm, ale podobnými dávkami u potkanů a lidí v rozmezí 7–100 nm (99). Nedávný výzkum poskytl přesné škálovací faktory mezi člověkem a potkanem pro kvantifikaci čichového ukládání UFP. Faktory měřítka jsou 165,24, 2,31 a 2,63 pro částice o velikosti 1 nm, 10 nm a 100 nm, v daném pořadí, při odhadu lidské depozice z údajů pro potkany (98). Není pochyb o tom, že absorpce a pronikání UFP se děje hlavně v dýchacím systému. Je však třeba vzít v úvahu i další možné brány pronikání UFP do organismu, i když obvykle vykazují mnohem nižší účinnost než inhalační expoziční cesta.(77)

Byl proveden rozsáhlý výzkum na zvířatech s cílem popsat vliv $PM_{0,1}$ na vývoj mozku. Postnatálně vykazují zvířata vystavená $PM_{0,1}$ krátkodobé poškození paměti, kortikální a hipokampální změny, které zvyšují potenciál excitotoxicity, a dlouhodobou gliální aktivaci, která je spojena s širokou škálou behaviorálních a dalších neurologických účinků (33).

V jiné studii byla provedena expozice znečištěnému ovzduší z filtrovaných výfukových plynů z dieselových motorů (částice < 500 nm) na modelu březí samice králíka, aby se podpořila předchozí zjištění, že expozice matky těmto částicím ovlivňuje vývoj plodu (66). Tato studie ukázala, že nanočástice v čichových tkáních potomků vystavených prenatalně byly spojeny se změnami v chování založeném na čichu. Tato zjištění naznačují, že tyto částice by mohly být přemístěny do struktur nervového systému plodu, což by mohlo vést k patologickým změnám v nervovém systému. V další studii řešitelé zkoumali neurologické účinky u potomků myši vystavených během těhotenství koncentrovanému množství UFP a $PM_{2,5}$ v okolním prostředí. Cílem bylo zjistit, zda je embryogeneze citlivým obdobím, takže by expozice mohla vést k poruchám vývoje mozku (67, 68). Neuropatologické změny byly pozorovány postnatálně a konkrétní změny přetrvávaly po celou dobu zrání mozku, což naznačuje, že expozice UFP a $PM_{2,5}$ během raného vývoje mozku vede k nevratným změnám ve vyvíjejícím se mozku (67, 68).

Expozice nízkým hladinám UFP v časném postnatálním období způsobila deficit kognitivních funkcí u dospělých myších samců. Důkazy o behaviorálních účincích z hlediska vlivu na neurovývoj nebyly zřejmé (70). Ve studii na myších vystavených postnatálně nízkým koncentracím UFP z okolí byly pozorovány změny kognitivních funkcí

a chování specifické pro pohlaví (166). Tato zjištění jsou v souladu s předchozími zjištěními diskutovanými v návrhu ISA PM (2018) (69).

Pro pochopení interpretace výsledků modelů hlodavců, z nichž návrh ISA PM (2018) vyvozuje kauzální vztah mezi expozicí UFP a účinky na nervový systém, vyvinuli výzkumníci kvantitativní nástroj pro předpověď inhalační dávky UFP do nosních čichových oblastí lidí a hlodavců (např. potkanů). Zjistili, že dávka vdechovaných částic v čichové oblasti člověka a potkana je ovlivněna velikostí částic a rychlostí dýchání. (71)

Španělská kohortová studie v rámci projektu BREATHE (Brain Development and Air Pollution Ultrafine Particles in School Children) zkoumajícího kvazi-UFP efekty (10–700 nm) pozorovala menší nárůst 12měsíčního rozvoje kognitivních funkcí u 2 715 dětí navštěvujících školy ve vysoce znečištěných oblastech ve srovnání s oblastmi s nízkým znečištěním (30).

- **Reprodukční a vývojové účinky**

Studie na zvířatech naznačují, že inhalace UFP by mohla vést k reprodukčním a vývojovým účinkům (72 - 74). Dvě nedávné studie na zvířatech poskytují sugestivní důkazy o reprodukčních a vývojových účincích u myši a králíků vystavených částicím výfukových plynů z dieselových motorů pre- a postnatálně (75, 76). Jedna studie prokázala u myši změny chování související s poruchou autistického spektra (75). Jiná studie prokázala zvýšenou míru fragmentace DNA spermií u samic králíků vystavených denně zředěným výfukovým plynům z dieselových motorů během březosti (76). Přetrvává však nejistota (např. mechanismy odpovědné za tyto jejich fyziologické důsledky) při hodnocení důkazů těchto zdravotních konečných ukazatelů.

Ačkoli některé toxikologické studie naznačují změny v mužských reprodukčních funkcích (např. zvýšené hladiny testosteronu, testikulárního cholesterolu a aktivace biomarkerů souvisejících s testikulární biosyntézou cholesterolu), důkazy nejsou dostatečné pro vyvození příčinné souvislosti mezi expozicí UFP a změnami na mužské reprodukce a plodnosti. Údaje byly rovněž považovány za nedostatečné pro stanovení vztahu k výsledkům těhotenství a porodu (73, 74). V jiné studii byla zvýšená pravděpodobnost nízké porodní hmotnosti (LBW) u předčasně narozených dětí (v 37. gestačním týdnu) asociována s hmotností částic PM_{0,1} (29).

- **Expozice dermální cestou**

Lidská kůže je největším orgánem těla a funguje jako dobrá bariéra vůči vnějšímu prostředí. Doposud neexistují přímé důkazy in vivo, které by podporovaly průnik nepoškozenou kůží při expozici UFP ve vzduchu, ačkoli tuto možnost nemůžeme vyloučit (102). Předpokládá se, že s průnikem UFP do kůže mohou být spojeny dvě cesty, mezibuněčná trans-epidermální buňka nebo difúze kožními póry (103). Byl testován například průnik nanočástic zinku z opalovacích krémů po opakovaných aplikacích na kůži. V pokuse s 20 lidskými dobrovolníky, kteří dostávali dvakrát denně po dobu 5 dnů aplikace, bylo nalezeno malé

množství stopového ^{68}Zn v krvi. Nejvyšší koncentrace ^{68}Zn byly zjištěny u žen vystavených působení nanočástic ^{68}ZnO (105). To znamená, že dlouhodobé zadržování UFP na kůži bez čištění může znamenat dermální penetraci i u částic ze vzduchu (104). Tato cesta vstupu není dostatečně probádaná, a je ji nutno brát v úvahu i v případě ultrajemných částic v ovzduší, ale současně se nepředpokládá, že by byla cestou dominantní.

- **Oční expozice**

Oční expozice je pro lidský organismus nevyhnutelná při pobytu ve znečištěných oblastech s vysokou koncentrací UFP v ovzduší, a to buď přímo kontaktem a vnášením částic do očí, nebo jejich přenosem z rukou při tření očí. Tato cesta expozice může mít za následek zadržování UFP v očích nebo odtok z očního důlku do nosní dutiny a vstup do mozku přenosem z nosu do mozku (106). Dále existuje vysoká pravděpodobnost, že částice mohou volně cestovat v krvi po celém těle a po vstupu do těla mohou překonávat další biologické bariéry. Je popsán účinek znečištění ovzduší na oči, ale ne speciálně pro ultrajemné částice. Výzkumy se zabývaly imunitními reakcemi povrchu oka, stabilitou slzného filmu a související osmolaritou slzného filmu po expozici očí PM ve vzduchu (107). Je popsán pokles osmolarity slz nebo vliv na snížení hladiny IL-5 a IL-10 (108). Nepříznivé účinky způsobené frakcí UFP ve znečištěném ovzduší z expozice oka jsou jednou z možných témat dalšího výzkumu pro pochopení mechanismu jejich účinku.

- **Studie „In vitro“**

V pokuse na zvířecím modelu bylo zjištěno, že došlo k významně většímu přílivu neutrofilů do plic krys ve srovnání s většími částicemi. V pokuse in vitro na buňkách ultrajemné částice polystyrenu vyvolaly významné zvýšení koncentrace vápenatých iontů v cytosolu. Došlo k významnému zvýšení exprese genu IL-8 v pokusných epiteliálních buňkách po ošetření ultrajemnými částicemi, ale nikoli částicemi jiných velikostí. Zjištění naznačují, že ultrajemné částice složené z materiálu s nízkou toxicitou, jako je polystyren, mají prozánětlivou aktivitu v důsledku jejich velkého povrchu (28).

Dlouhodobé účinky

Studie dlouhodobých zdravotních účinků se objevují teprve v posledních 10 až 15 letech. Je to dáno nedostatkem podkladů pro stanovení expozice ultrajemných částic a ne dostatečně dlouhou dobou sledování. Prozkoumání asociací mezi koncentracemi ultrajemných částic (UFP) zvýšených v blízkosti rušných silnic a jejich vlivem na prevalenci kardiovaskulárních onemocnění, cukrovky a hypertenze bylo cílem studie provedené v Bostonu. Byly shromážděny údaje o demografii, nemocech, užívání léků, BMI a době aktivit pomocí domácích průzkumů pro 704 účastníků blízko dálnice a městského zázemí v Bostonu a okolí (MA, USA). Koncentrace počtu částic UFP byly zjištěny mobilním monitorováním a za použití časoprostorových regresních modelů byly odhadnuty hodinové hodnoty PNC (particle number counter) v okolí bydliště účastníků. Pomocí vícerozměrných logistických regresních modelů

byl zjištěn poměr šancí (OR) 1,35 (95% CI: 0,83, 2,22) TAA-PNC s cévní mozkovou příhodou a ischemickou chorobou srdeční (S/IHD), OR 1,14 (95% CI: 0,81, 1,62) s hypertenzí a OR 0,71 (95% CI: 0,46, 1,10) pro diabetes. Studie zjistila pozitivní, ale nesignifikantní souvislosti mezi expozicí PNC (4 nm) v každé rezidenční adrese a prevalencí cévní mozkové příhody, ischemické choroby srdeční, hypertenze a diabetu. Analýza podskupiny kontrolující BMI přinesla o něco silnější asociace pro S/IHD (OR = 1,61, 95% CI: 0,88, 2,92) a hypertenzi (OR = 1,28, 95% CI: 0,81, 2,02) a žádnou asociaci s diabetem (OR = 1,09, 95% CI = 0,61, 1,96) (20). Kohortová studie se 101 884 účastnicemi z California Teachers Study pozorovala významně zvýšené riziko úmrtnosti na ICHS a pozitivní asociace pro mortalitu ze všech příčin, kardiovaskulární mortalitu a plicní mortalitu (27).

Protože výše uvedené studie nebyly upraveny pro spolupolutanty, nebylo možné vyhodnotit nezávislé účinky. Důkazy z epidemiologických studií zatím nejsou dostatečné k tomu, aby bylo možné určit, zda dlouhodobé expozice UFP mohou být spojeny se zdravotními výsledky ve stejném rozsahu, jaký byl pozorován ve studiích na zvířatech.

3. Diskuze a závěry

Doporučení Světové zdravotní organizace, týkající se přijatelných koncentrací aerosolu ve venkovním ovzduší se v průběhu let dostávají ke stále nižším a nižším koncentracím a přesto zůstávají mechanismy zdravotních účinků při takto nízkých hmotnostních koncentracích částic nejasné. Hypotézy k identifikaci odpovědných částic se zaměřily na kyselost částic, obsah částic přechodných kovů, bioaerosoly a ultrajemné částice (11). Pokud UFP způsobují zdravotní účinky nezávisle na hrubších frakcích, mohlo by to ovlivnit hodnocení dopadu znečištění ovzduší na zdraví, což by případně vedlo ke zvážení alternativních politických možností, jak snížit zátěž způsobenou PM.

Důkazy jsou nekonzistentní nebo nedostatečné k vyvození pevných závěrů o úmrtnosti a nemocnosti nebo o dlouhodobých účincích UFP. Jedním z nejdůležitějších aspektů při zkoumání zdravotních účinků souvisejících s UFP je hodnocení expozice, přičemž tradiční metody hodnocení expozice znečištění ovzduší nejsou optimálně navrženy tak, aby posuzovaly skutečnou vysokou prostorovou a časovou variabilitu UFP, s největší pravděpodobností zkreslující účinky směrem k nule. Kromě toho se rozsahy velikostí částic, doby prodlevy a průměrná doba expozice mezi jednotlivými studii liší, což ztěžuje možnosti porovnání velikosti účinků a konzistenci mezi studii stejně jako nedostatek studií s modely pro více znečišťujících látek, který omezuje hodnocení nezávislých účinků. Dalším důležitým bodem při zvažování studií lidské populace je, že PM_{2,5} mají bezprostřednější účinky, zatímco PM_{0,1} mají více opožděné účinky a větší vliv na úmrtnost (32) Většina epidemiologických studií akutní expozice PM_{0,1} bere v úvahu prodlevu mezi expozicí a příznaky v rozsahu 1–5 dnů, aby byl zohledněn opožděný účinek. Studie kontrolované expozice u lidí ukázaly, že expozice UFP může způsobit biologické změny v několika kardiopulmonálních drahách, ale podobně jako epidemiologické studie krátkodobé expozice zatím neposkytují důkazy na podporu závěru, že UFP jsou účinnější než jiné frakce velikosti PM.

Podobné závěry platí i pro účinky na nervový systém. Ze studií PM_{2,5} u lidí nelze vyvodit závěr, zda jsou UFP hlavním faktorem pozorovaných neurologických a jiných zdravotních následků spojených s expozicí PM_{2,5}. Souhrnně toxikologické, epidemiologické a kontrolované studie expozice lidí zatím neposkytují důkazy o tom, že UFP jsou účinnější než jiné velikostní frakce PM. Žádné studie přímo nespojují UFP se zdravím lidského mozku. Zdokonalené metody modelování umožní zlepšit odhad vlivu UFP na lidské zdraví. Důkazy o zdravotních účincích na člověka v souvislosti s expozicí UFP tedy zůstávají neprůkazné nebo pro většinu zdravotních výsledků nedostatečné (61).

T A
Č R

Tento projekt je spolufinancován se státní podporou
Technologické agentury ČR a Ministerstva životního
prostředí v rámci Programu Prostředí pro život.

www.tacr.cz www.mzp.cz



4. Výzkumné činnosti – prvek novosti

Důkazy naznačují nepříznivé krátkodobé souvislosti UFP se zánětlivými a kardiovaskulárními změnami, které mohou být alespoň částečně nezávislé na jiných polutantech. U ostatních studovaných zdravotních výsledků zůstávají důkazy o nezávislých zdravotních účincích UFP neprůkazné nebo nedostatečné (31). V současné době je ve středu zájmu výzkum ovlivnění nervového systému a to jak ve fázi vývoje tak podíl UFP při rozvoji neurodegenerativních onemocnění. K objasnění mechanismu, kterým UFP vyvolávají zdravotní účinky, jsou zapotřebí další studie.

Problematika zdravotních účinků a rizik daných expozicemi částicím menším než 100 nm je v současnosti aktuálním tématem i pro hodnocení pracovního prostředí, bezpečnosti výrobků a dalších témat. Proto SZÚ inicioval a průběžně pokračuje v sledování a propagaci této problematiky pořádáním seminářů pod názvem „Nanobezpečnost“. Minulý seminář se uskutečnil se 25. 10. 2022 v Ostravě ve spolupráci s VŠB. (více na toto téma: <http://www.szu.cz/tema/problematika-nano-castic-a-nanomaterialu-1>). V rámci řešení projektu je již možno mluvit o tradici těchto setkání a snaze spojovat odborníky, kteří, přístupem z různých úhlů pohledu a různých svých odborností, přispějí k celkovému souboru vědomostí na toto téma.

5. Základní literární podklady

- [1] Li, N. et al. A work group report on ultrafine particles (American Academy of Allergy, Asthma & Immunology): why ambient ultrafine and engineered nanoparticles should receive special attention for possible adverse health outcomes in human subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.* 138, 386–396 (2016).
- [2] Morawska, L., Ristovski, Z., Jayaratne, R., Keogh, D. U. & Ling, X. Ambient nano and ultrafine particles from motor vehicle emissions: characteristics, ambient processing and implications on human exposure. *Atmos. Environ.* 42, 8113–8138 (2008).
- [3] Karner, A. A., Eisinger, D. S. & Niemeier, D. A. Near-roadway air quality: synthesizing the findings from real-world data. *Environ. Sci. Technol.* 44, 5334–5344 (2010).
- [4] Frank, B., Schuster, M. E., Schlogl, R. & Su, D. S. Emission of highly activated soot particulate—the other side of the coin with modern diesel engines. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 52, 2673–2677 (2013).
- [5] Park, B. et al. Hazard and risk assessment of a nanoparticulate cerium oxide based diesel fuel additive—a case study. *Inhal. Toxicol.* 20, 547–566 (2008).
- [6] Aalto, P. et al. Aerosol particle number concentration measurements in five European cities using TSI-3022 condensation particle counter over a three year period during health effects of air pollution on susceptible subpopulations. *J. Air Waste Manag. Assoc.* (1995) 55, 1064–1076 (2005).
- [7] de Jesus, A. L. et al. Ultrafine particles and PM_{2.5} in the air of cities around the world: are they representative of each other? *Environ. Int.* 129, 118–135 (2019).
- [8] Thurston GD, Kipen H, Annesi-Maesano I, Balmes J, Brook RD, Cromar K et al (2017) A joint ERS/ATS policy statement: what constitutes an adverse health effect of air pollution? An analytical framework. *Eur Respir J.* <https://doi.org/10.1183/13993003.00419-2016>
- [9] HEI Understanding the health effects of ambient ultrafine particles. HEI perspectives 3. Health Effects Institute, Boston, MA (2013)
- [10] Oberdörster G. Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. *Int Arch Occup Environ Health.* 2001 Jan;74(1):1-8. doi: 10.1007/s004200000185. PMID: 11196075.
- [11] Utell MJ, Frampton MW. Acute health effects of ambient air pollution: the ultrafine particle hypothesis. *J Aerosol Med.* 2000 Winter;13(4):355-59. doi: 10.1089/jam.2000.13.355. PMID: 11262441.
- [12] Traboulsi H, Guerrina N, Iu M, Maysinger D, Ariya P, Baglolle CJ. Inhaled Pollutants: The Molecular Scene behind Respiratory and Systemic Diseases Associated with Ultrafine Particulate Matter. *Int J Mol Sci.* 2017 Jan 24;18(2):243. doi: 10.3390/ijms18020243. PMID: 28125025; PMCID: PMC5343780.
- [13] Lodovici M, Bigagli E. Oxidative stress and air pollution exposure. *J Toxicol.* 2011;2011:487074. doi: 10.1155/2011/487074. Epub 2011 Aug 13. PMID: 21860622; PMCID: PMC3155788.
- [14] Leikauf, G.D., Kim, S.H. & Jang, A.S. Mechanisms of ultrafine particle-induced respiratory health effects. *Exp Mol Med* 52, 329–337 (2020). <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0394-0>
- [15] Jeong A, et al; EXPOSOMICS Consortium. Perturbation of metabolic pathways mediates the association of air pollutants with asthma and cardiovascular diseases. *Environ Int.* 2018 Oct;119:334-345. doi: 10.1016/j.envint.2018.06.025. Epub 2018 Jul 7. PMID: 29990954.

- [16] Li H, et al: Ultrafine particulate air pollution and pediatric emergency-department visits for main respiratory diseases in Shanghai, China. *Sci Total Environ.* 2021 Jun 25;775:145777. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.145777. Epub 2021 Feb 11. PMID: 33631593.
- [17] Frampton MW, et al.: Effects of exposure to ultrafine carbon particles in healthy subjects and subjects with asthma. *Res Rep Health Eff Inst.* 2004 Dec;(126):1-47; discussion 49-63. PMID: 15768531.
- [18] Araujo JA, Nel AE. Particulate matter and atherosclerosis: role of particle size, composition and oxidative stress. *Part Fibre Toxicol.* 2009 Sep 18;6:24. doi: 10.1186/1743-8977-6-24. PMID: 19761620; PMCID: PMC2761850.
- [19] Lanzinger, S.; Schneider, A.; Breitner, S.; Stafoggia, M.; Erzen, I.; Dostal, M.; Pastorkova, A.; Bastian, S.; Cyrys, J.; Zscheppang, A.; et al. Associations between ultrafine and fine particles and mortality in five central European cities—Results from the UFIREG study. *Environ. Int.* 2016, 88, 44–52.
- [20] Li Y, et al.: Association of Long-Term Near-Highway Exposure to Ultrafine Particles with Cardiovascular Diseases, Diabetes and Hypertension. *Int J Environ Res Public Health.* Apr 26;14(5):461. doi: 10.3390/ijerph14050461. PMID: 28445425; PMCID: PMC5451912. (2017)
- [21] Peters, A., Wichmann, H. E., Tuch, T., Heinrich, J. & Heyder, J. Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 155 (4), 1376–1383 (1997).
- [22] Von Klot, S. et al. Increased asthma medication use in association with ambient fine and ultrafine particles. *Eur. Respir. J.* 20, 691–702 (2002).
- [23] Andersen, Z. J. et al. Size distribution and total number concentration of ultrafine and accumulation mode particles and hospital admissions in children and the elderly in Copenhagen, Denmark. *Occup. Environ. Med.* 65, 458–466 (2008).
- [24] Weichenthal, S. et al. Long-term exposure to ambient ultrafine particles and respiratory disease incidence in Toronto, Canada: a cohort study. *Environ. Health* 16, 64 (2017).
- [25] Clifford, S. et al. Effects of exposure to ambient ultrafine particles on respiratory health and systemic inflammation in children. *Environ. Int.* 114, 167–180 (2018).
- [26] Samet, J. M. et al. Concentrated ambient ultrafine particle exposure induces cardiac changes in young healthy volunteers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 179, 1034–1042 (2009).
- [27] Ostro B, Hu J, Goldberg D, Reynolds P, Hertz A, Bernstein L, Kleeman MJ (2015) Associations of mortality with long-term exposures to fine and ultrafine particles, species and sources: results from the California Teachers Study Cohort. *EnvironHealth Perspect* 123:549–556. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408565>
- [28] Brown DM, Wilson MR, MacNee W, Stone V, Donaldson K. Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: a role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2001 Sep 15;175(3):191-9. doi: 10.1006/taap.2001.9240. PMID: 11559017.
- [29] Laurent O, Hu J, Li L, Cockburn M, Escobedo L, Kleeman MJ, Wu J (2014) Sources and contents of air pollution affecting term low birth weight in Los Angeles County, California, 2001–2008. *Environ Res* 134:488–495. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.05.003>
- [30] Sunyer J, Esnaola M, Alvarez-Pedrerol M, Forns J, Rivas I, Lopez-Vicente M et al (2015) Association between traffic-related air pollution in schools and cognitive development in primary school children: a prospective cohort study. *PLoS Med.* <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001792>

- [31] Ohlwein S, Kappeler R, Kutlar Joss M, Künzli N, Hoffmann B. Health effects of ultrafine particles: a systematic literature review update of epidemiological evidence. *Int J Public Health*. 2019 May;64(4):547-559. doi: 10.1007/s00038-019-01202-7. Epub 2019 Feb 21. PMID: 30790006.
- [32] Ibaldo-Mulli, A., Wichmann, H. E., Kreyling, W. & Peters, A. Epidemiological evidence on health effects of ultrafine particles. *J. Aerosol Med.* 15, 189–201 (2002).
- [33] Allen, J. L. et al. Developmental exposure to concentrated ambient ultrafine particulate matter air pollution in mice results in persistent and sexdependent behavioral neurotoxicity and glial activation. *Toxicol. Sci.* 140, 160–178 (2014).
- [34] Stone, V.; Miller, M.R.; Clift, M.; Elder, A.; Mills, N.L.; Møller, P.; Schins, R.P.; Vogel, U.; Kreyling, W.; Jensen, K.A.; et al. Nanomaterials Versus Ambient Ultrafine Particles: An Opportunity to Exchange Toxicology Knowledge. *Environ. Health Perspect.* 2017, 125, 106002.
- [35] Xia, T.; Kovochich, M.; Brant, J.; Hotze, M.; Sempf, J.; Oberley, T.; Sioutas, C.; Yeh, J.I.; Wiesner, M.R.; Nel, A.E. Comparison of the Abilities of Ambient and Manufactured Nanoparticles To Induce Cellular Toxicity According to an Oxidative Stress Paradigm. *Nano Lett.* 2006, 6, 1794–1807.
- [36] Miller, M.R. The role of oxidative stress in the cardiovascular actions of particulate air pollution. *Biochem. Soc. Trans.* 2014, 42, 1006–1011.
- [37] Unfried, K.; Albrecht, C.; Klotz, L.-O.; Von Mikecz, A.; Grether-Beck, S.; Schins, R.P. Cellular responses to nanoparticles: Target structures and mechanisms. *Nanotoxicology* 2007, 1, 52–71.
- [38] Mo, Y.; Wan, R.; Chien, S.; Tollerud, D.J.; Zhang, Q. Activation of endothelial cells after exposure to ambient ultrafine particles: The role of NADPH oxidase. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2009, 236, 183–193.
- [39] Brown, D.M.; Donaldson, K.; Borm, P.J.; Schins, R.P.; Dehnhardt, M.; Gilmour, P.; Jimenez, L.A.; Stone, V. Calcium and ROS-mediated activation of transcription factors and TNF- α cytokine gene expression in macrophages exposed to ultrafine particles. *Am. J. Physiol. Cell. Mol. Physiol.* 2004, 286, L344–L353.
- [40] Schins, R.P.; Lightbody, J.H.; Borm, P.J.; Shi, T.; Donaldson, K.; Stone, V. Inflammatory effects of coarse and fine particulate matter in relation to chemical and biological constituents. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2004, 195, 1–11.
- [41] Jalava, P.I.; Happonen, M.S.; Huttunen, K.; Sillanpää, M.; Hillamo, R.; Salonen, R.O.; Hirvonen, M.-R. Chemical and microbial components of urban air PM cause seasonal variation of toxicological activity. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2015, 40, 375–387.
- [42] Haghani, A.; Johnson, R.; Safi, N.; Zhang, H.; Thorwald, M.; Mousavi, A.; Woodward, N.C.; Shirmohammadi, F.; Coussa, V.; Wise, J.P.; et al. Toxicity of urban air pollution particulate matter in developing and adult mouse brain: Comparison of total and filter-eluted nanoparticles. *Environ. Int.* 2020, 136, 105510.
- [43] Donaldson, K.; Poland, C.; Schins, R.P.F. Possible genotoxic mechanisms of nanoparticles: Criteria for improved test strategies. *Nanotoxicology* 2010, 4, 414–420
- [44] Wessels, A.; Birmili, W.; Albrecht, C.; Hellack, B.; Jermann, E.; Wick, G.; Harrison, R.M.; Schins, R.P. Oxidant Generation and Toxicity of Size-Fractionated Ambient Particles in Human Lung Epithelial Cells. *Environ. Sci. Technol.* 2010, 44, 3539–3545
- [45] Topinka, J.; Milcova, A.; Schmuczerova, J.; Krouzek, J.; Hovorka, J. Ultrafine particles are not major carriers of carcinogenic PAHs and their genotoxicity in size-segregated aerosols. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2013, 754, 1–6.

- [46] Badran, G.; Ledoux, F.; Verdin, A.; Abbas, I.; Roumie, M.; Genevray, P.; Landkocz, Y.; Guidice, J.-M.L.; Garçon, G.; Courcot, D. Toxicity of fine and quasi-ultrafine particles: Focus on the effects of organic extractable and non-extractable matter fractions. *Chemosphere* 2019, 243, 125440.
- [47] Li, N., et al., Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ Health Perspect*, 2003. 111(4): p. 455-60.
- [48] Bhargava, A., et al., Ultrafine particulate matter impairs mitochondrial redox homeostasis and activates phosphatidylinositol 3-kinase mediated DNA damage responses in lymphocytes. *Environ Pollut*, 2018. 234: p. 406-419.
- [49] Cheng, H., et al., Nano-scale particulate matter from urban traffic rapidly induces oxidative stress and inflammation in olfactory epithelium with concomitant effects on brain. *Environmental Health Perspectives*, 2016. 124(10): p. 1537-1546.
- [50] Kreyling, W.G., et al., Air-blood barrier translocation of tracheally instilled gold nanoparticles inversely depends on particle size. *ACS Nano*, 2014. 8(1): p. 222-233.
- [51] Miller, M.R., et al., Inhaled nanoparticles accumulate at sites of vascular disease. *ACS Nano*, 2017. 11(5): p. 4542-4552.
- [52] Miller, M.R., et al., Correction to "Inhaled Nanoparticles Accumulate at Sites of Vascular Disease". *ACS Nano*, 2017. 11(10): p. 10623-10624.
- [53] Reibman, J., et al., Size fractions of ambient particulate matter induce granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human bronchial epithelial cells by mitogen-activated protein kinase pathways. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2002. 27(4): p. 455-62.
- [54] Hennig, F., et al., Ultrafine and Fine Particle Number and Surface Area Concentrations and Daily Cause-Specific Mortality in the Ruhr Area, Germany, 2009-2014. *Environ Health Perspect*, 2018. 126(2): p. 027008.
- [55] Hohr, D., et al., The surface area rather than the surface coating determines the acute inflammatory response after instillation of fine and ultrafine TiO₂ in the rat. *Int J Hyg Environ Health*, 2002. 205(3): p. 239-44.
- [56] Sager, T.M. and V. Castranova, Surface area of particle administered versus mass in determining the pulmonary toxicity of ultrafine and fine carbon black: comparison to ultrafine titanium dioxide. *Part Fibre Toxicol*, 2009. 6: p. 15.
- [57] Tyler, C.R., et al., Surface area-dependence of gas-particle interactions influences pulmonary and neuroinflammatory outcomes. *Particle and Fibre Toxicology*, 2016. 13(1): p. 64.
- [58] Saber, A.T., et al., Particle-induced pulmonary acute phase response may be the causal link between particle inhalation and cardiovascular disease. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2014. 6(6): p. 517-31.
- [59] EPA. Integrated Science Assessment (ISA) for Particulate Matter (Final Report, Dec 2009). 2009, Available from: <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=216546>.
- [60] Oberdorster, G., E. Oberdorster, and J. Oberdorster, Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect*, 2005. 113(7): p. 823-39.
- [61] Cassee, Flemming R. et al. "White Paper: Ambient ultrafine particles: evidence for policy makers." (2019).
- [62] Stone, V., et al.: Nanomaterials versus ambient ultrafine particles: an opportunity to exchange toxicology knowledge. *Environ Health Perspect*, 2017. 125(10), p.106002.
- [63] Li, Q., Yi, Q., Tang, L., Luo, S., Tang, Y., Zhang, G. and Luo, Z., 2019. Influence of Ultrafine Particles Exposure on Asthma Exacerbation in Children: A Meta-Analysis. *Current Drug Targets*, 20(4), pp.412-420

- [64] Downward, G.S., et al.: Long-term exposure to ultrafine particles and incidence of cardiovascular and cerebrovascular disease in a prospective study of a Dutch cohort. *Environmental Health Perspectives*, 2018. 126(12), p.127007.
- [65] Bai, L., et al.: Associations of Long-Term Exposure to Ultrafine Particles and Nitrogen Dioxide With Increased Incidence of Congestive Heart Failure and Acute Myocardial Infarction. *American Journal of Epidemiology*, 2018. 188(1), pp.151-159.
- [66] Bernal-Melendez, E., et al., Repeated gestational exposure to diesel engine exhaust affects the fetal olfactory system and alters olfactory-based behavior in rabbit offspring. *Part Fibre Toxicol*, 2019. 16(1): p. 5
- [67] Klocke, C., et al., Neuropathological Consequences of Gestational Exposure to Concentrated Ambient Fine and Ultrafine Particles in the Mouse. *Toxicol Sci*, 2017. 156(2): p. 492-508.
- [68] Klocke, C., et al., Exposure to fine and ultrafine particulate matter during gestation alters postnatal oligodendrocyte maturation, proliferation capacity, and myelination. *Neurotoxicology*, 2018. 65: p. 196-206.
- [69] EPA. Integrated Science Assessment (ISA) for Particulate Matter (External Review Draft) 2018 [cited 2019 02/14]; Available from:
<https://cfpub.epa.gov/ncea/isa/recordisplay.cfm?deid=341593>
- [70] Morris-Schaffer, K., et al., Limited developmental neurotoxicity from neonatal inhalation exposure to diesel exhaust particles in C57BL/6 mice. *Part Fibre Toxicol*, 2019. 16(1): p. 1
- [71] Tian, L., et al., Correlation of regional deposition dosage for inhaled nanoparticles in human and rat olfactory. *Part Fibre Toxicol*, 2019. 16(1): p. 6.
- [72] Li, C., et al., Effect of nanoparticle-rich diesel exhaust on testosterone biosynthesis in adult male mice. *Inhalation Toxicology*, 2012. 24(9): p. 599-608.
- [73] Laurent, O., et al., Sources and contents of air pollution affecting term low birth weight in Los Angeles County, California, 2001–2008. *Environmental Research*, 2014. 134: p. 488-495.
- [74] Laurent, O., et al., A statewide nested case-control study of preterm birth and air pollution by source and composition: California, 2001-2008. *Environmental Health Perspectives*, 2016. 124(9): p. 1479-1486.
- [75] Chang, Y.C., T.B. Cole, and L.G. Costa, Prenatal and early-life diesel exhaust exposure causes autism-like behavioral changes in mice. *Part Fibre Toxicol*, 2018. 15(1): p. 18.
- [76] Bourdon, M., et al., Impact of a gestational exposure to diesel exhaust on offspring gonadal development: experimental study in the rabbit. *J Dev Orig Health Dis*, 2018. 9(5): p. 519-529.
- [77] Chen R, Hu B, Liu Y, Xu J, Yang G, Xu D, Chen C. Beyond PM2.5: The role of ultrafine particles on adverse health effects of air pollution. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Dec;1860(12):2844-55. doi: 10.1016/j.bbagen.2016.03.019. Epub 2016 Mar 16. PMID: 26993200.
- [78] F.R. Cassee, H. Muijsers, E. Duistermaat, J.J. Freijer, K.B. Geerse, J.C. Marijnissen, J.H. Arts, Particle size-dependent total mass deposition in lungs determines inhalation toxicity of cadmium chloride aerosols in rats. Application of a multiple path dosimetry model, *Arch. Toxicol*. 76 (2002) 277–286.
- [79] S. Anjilvel, B. Asgharian, A multiple-path model of particle deposition in the rat lung, *Fundam. Appl. Toxicol*. 28 (1995) 41–50.
- [80] M. Mazaheri, S. Clifford, R. Jayaratne, M.A. Megat Mokhtar, F. Fuoco, G. Buonanno, L. Morawska, School children's personal exposure to ultrafine particles in the urban environment, *Environ. Sci. Technol*. 48 (2014) 113–120.

- [81] M. Semmler, J. Seitz, F. Erbe, P. Mayer, J. Heyder, G. Oberdorster, W.G. Kreyling, Long-term clearance kinetics of inhaled ultrafine insoluble iridium particles from the rat lung, including transient translocation into secondary organs, *Inhal. Toxicol.* 16 (2004) 453–459.
- [82] W.G. Kreyling, M. Semmler, F. Erbe, P. Mayer, S. Takenaka, H. Schulz, G. Oberdorster, A. Ziesenis, Translocation of ultrafine insoluble iridium particles From lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent but very low, *J. Toxic. Environ. Health A* 65 (2002) 1513–1530.
- [83] W. Moller, K. Felten, K. Sommerer, G. Scheuch, G. Meyer, P. Meyer, K. Haussinger, W.G. Kreyling, Deposition, retention, and translocation of ultrafine particles from the central airways and lung periphery, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177 (2008) 426–432.
- [84] M. Manigrasso, C. Vernale, P. Avino, Traffic aerosol lobar doses deposited in the human respiratory system, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 1–8 (2015).
- [85] M. Yegambaram, B. Manivannan, T.G. Beach, R.U. Halden, Role of environmental contaminants in the etiology of Alzheimer's disease: a review, *Curr. Alzheimer. Res.* 12 (2015) 116–146.
- [86] L.G. Costa, T.B. Cole, J. Coburn, Y.C. Chang, K. Dao, P.J. Roque, Neurotoxicity of traffic-related air pollution, *Neurotoxicology* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2015.11.008>.
- [87] F. Liu, Y. Huang, F. Zhang, Q. Chen, B. Wu, W. Rui, J.C. Zheng, W. Ding, Macrophages treated with particulate matter PM2.5 induce selective neurotoxicity through glutaminase-mediated glutamate generation, *J. Neurochem.* 134 (2015) 315–326.
- [88] A. Minn, S. Leclerc, J.M. Heydel, A.L. Minn, C. Denizcot, M. Cattarelli, P. Netter, D. Gradinaru, Drug transport into the mammalian brain: the nasal pathway and its specific metabolic barrier, *J. Drug Target.* 10 (2002) 285–296.
- [89] J. Ali, M. Ali, S. Baboota, J.K. Sahani, C. Ramassamy, L. Dao, Bhavna, Potential of nanoparticulate drug delivery systems by intranasal administration, *Curr. Pharm. Des.* 16 (2010) 1644–1653.
- [90] K.B. Knudsen, H. Northeved, P.K. Ek, A. Permin, T.L. Andresen, S. Larsen, K.M. Wegener, H.R. Lam, J. Lykkesfeldt, Differential toxicological response to positively and negatively charged nanoparticles in the rat brain, *Nanotoxicology* 8 (2014) 764–774.
- [91] D.C. Dorman, M.F. Struve, B.A. Wong, J.A. Dye, I.D. Robertson, Correlation of brain magnetic resonance imaging changes with pallidal manganese concentrations in rhesus monkeys following subchronic manganese inhalation, *Toxicol. Sci.* 92 (2006) 219–227.
- [92] L.E. Hopkins, E.S. Patchin, P.L. Chiu, C. Brandenberger, S. Smiley-Jewell, K.E. Pinkerton, Nose-to-brain transport of aerosolised quantum dots following acute exposure, *Nanotoxicology* 8 (2014) 885–893.
- [93] Y. Qin, J. Liu, G. Wang, Y. Zhang, Evaluation of indoor air quality based on qualitative, quantitative and olfactory analysis, *Chin. Sci. Bull.* 58 (2013) 986–991.
- [94] G. Oberdorster, Z. Sharp, V. Atudorei, A. Elder, R. Gelein, W. Kreyling, C. Cox, translocation of inhaled ultrafine particles to the brain, *Inhal. Toxicol.* 16 (2004) 437–445.
- [95] R. Bai, L. Zhang, Y. Liu, B. Li, L. Wang, P. Wang, H. Autrup, C. Beer, C. Chen, Integrated analytical techniques with high sensitivity for studying brain translocation and potential impairment induced by intranasally instilled copper nanoparticles, *Toxicol. Lett.* 226 (2014) 70–80.
- [96] L. Zhang, R. Bai, Y. Liu, L. Meng, B. Li, L. Wang, L. Xu, L. Le Guyader, C. Chen, The dose-dependent toxicological effects and potential perturbation on the neurotransmitter secretion in

- brain following intranasal instillation of copper nanoparticles, *Nanotoxicology* 6 (2012) 562–575.
- [97] J.Wang, C. Chen, Y. Liu, F. Jiao, W. Li, F. Lao, Y. Li, B. Li, C. Ge, G. Zhou, Y. Gao, Y. Zhao, Z. Chai, Potential neurological lesion after nasal instillation of TiO₂ nanoparticles in the anatase and rutile crystal phases, *Toxicol. Lett.* 183 (2008) 72–80.
- [98] Dong et al.: Transport and deposition of ultrafine particles in the upper tracheobronchial tree: a comparative study between approximate and realistic respiratory tract models. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* (2021).24(7):1-10
- [99] G.J. Garcia, J.D. Schroeter, J.S. Kimbell, Olfactory deposition of inhaled nanoparticles in humans, *Inhal. Toxicol.* 27 (2015) 394–403.
- [100] K. Inthavong, Q.J. Ge, C.M.K. Se, W. Yang, J.Y. Tu, Simulation of sprayed particle deposition in a human nasal cavity including a nasal spray device, *J. Aerosol Sci.* 42 (2011) 100–113.
- [101] K. Inthavong, Z.F. Tian, H.F. Li, J.Y. Tu, W. Yang, C.L. Xue, C.G. Li, A numerical study of spray particle deposition in a human nasal cavity, *Aerosol Sci. Technol.* 40 (2006) (1034-U1033).
- [102] S.E. Mancebo, S.Q. Wang, Recognizing the impact of ambient air pollution on skin health, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 12 (2015) 2326–2332.
- [103] C. Bennat, C. Müller-Goymann, Skin penetration and stabilization of formulations containing microfine titanium dioxide as physical UV filter, *Int. J. Cosmet. Sci.* 22 (2000) 271–283.
- [104] N.D. Magnani, X.M. Muresan, G. Belmonte, F. Cervellati, C. Sticozzi, A. Pecorelli, C. Miracco, T. Marchini, P. Evelson, G. Valacchi, Skin damage mechanisms related to airborne particulate matter exposure, *Toxicol. Sci.* 149 (2016) 227–236.

6. Příloha 1: Mezinárodní projekty s účastí českých partnerů

6.1. Projekt UFIPOLNET

(Ultrafine particle size distributions in air pollution monitoring networks) Rozložení velikosti částic v monitorovací síti znečištění ovzduší

Cílem projektu UFIPOLNET (prosinec 2004 - březen 2008) bylo vyvinout cenově dostupné zařízení pro měření ultrajemných částic pro celoevropskou implementaci. Spolehlivá data o ultrajemných částicích jsou nezbytná pro definování rozsahu problému a nalezení řešení. Úspěšný návrh a projektové řízení byly dobrým příkladem pro spolupráci veřejného a soukromého sektoru. Projekt UFIPOLNET měl za cíl prokázat, že nově vyvinutý monitor ultrajemných částic UFP 330 je schopen přiměřeně fungovat v běžném provozu měřicí sítě. Přístroj měří počet částic velikostí od 20 do 500 nm. Pouze 6 velikostních tříd > 20, > 30, > 50, > 70, > 100, > 200 (N1 - N6) bylo přenášeno z centrální měřicí sítě stanic, aby se snížilo množství dat shromážděných v databázi.

V rámci projektu byly ultrajemné částice měřeny na 4 měřicích stanicích v Evropě: Stockholm, Drážďany, Praha, Augsburg. Měření probíhalo od prosince 2006 až do října 2007. Všechna místa se nacházejí v blízkosti frekventovaných silnic; Augsburg je městské pozadí. Koncentrace počtu částic byly korelovány s oxidy dusíku, benzenem a dalšími kontinuálně se vyskytujícími látkami měřenými v běžné měřicí síti. Na některých místech byly počty částic korelovány s intenzitou dopravy. Jedním z cílů projektu UFIPOLNET bylo sladit podmínky odběru vzorků (vliv pre-impakce částic a vlhkosti) a také vyhodnocení stejných velikostních tříd. Tento přístup byl zaměřený na usnadnění interpretace koncentrací počtu částic a distribuce velikosti. Srovnatelné výsledky umožňují analýzu absolutních rozdílů mezi distribucí ultrajemných velikostí aerosolu na mnoha znečištěných místech po dlouhá období.

6.2. Projekt UFIREG

(Central Europe project 3CE288P3 Ultrafine particles – an evidence based contribution to the development of regional and European environmental and health policy, UFIREG)

UFIREG je zkratka Evropského projektu, který byl finančně podporován z Evropského fondu pro regionální rozvoj (Operační program Nadnárodní spolupráce Střední Evropa). Projekt probíhal od 1. 7. 2011 do 31. 12. 2014 a byl zaměřen na monitorování ultrajemných částic a analýzu vlivu jejich inhalace na lidské zdraví, zejména na kardiovaskulární a respirační onemocnění. Hlavním cílem projektu bylo přispět ke zlepšení kvality ovzduší a ochrany lidského zdraví a především poskytnout doporučení pro politiku ochrany životního prostředí a to nejen na regionální úrovni, ale z hlediska celé Evropy v politice ochrany životního prostředí v Evropě, tj. v akčním plánu Clean Air Plan for Europe.

Projekt UFIREG se vztahoval k předchozímu projektu UFIPOLNET, který byl také financován EU (UFIPOLNET – distribuce ultrajemných částic v sítích měření znečištění ovzduší) a byl ukončen v roce 2008. UFIREG na něj navazoval a využíval jeho přínosu.

Týmy pracovníků projektu UFIREG měřily koncentrace ultrajemných prachových částic v ovzduší pěti evropských měst (Dráždany a Augsburg v Německu, Praha v Česku, Lublaň ve Slovinsku a Chernivtsi na Ukrajině). Součástí projektu byla analýza jejich vlivu na lidské zdraví. Expozice UFP byly korelovány s denní úmrtností a výskytem onemocnění vyžadujících hospitalizaci.

Stanovené limity pro hmotnost částic (PM_{10} nebo $PM_{2,5}$) nejsou vhodné pro monitorování koncentrace UFP, neboť tyto částice mají obvykle v porovnání s hrubou frakcí (PM_{10} , $PM_{2,5}$) řádově nižší hmotnost, a tudíž jsou v rámci současných limitů téměř nedetekovatelné. Proto je v případě UFP nejlepším indikátorem početní koncentrace částic (PN), měřená počtem těchto částic v krychlovém centimetru vzduchu. Početní koncentrace je také vodítkem ke stanovení expozice UFP vznikajícími a nacházejícími se v ovzduší. UFP vznikají fyzikálně-chemickými procesy ve volné atmosféře, proto jsou vedle UFP průběžně a současně sledovány i škodliviny dané předpisy EU, jako je SO_2 , NO_x , CO, O_3 , BTX, PM_{10} a $PM_{2,5}$. Mezi těmito veličinami a UFP byly v rámci projektu hledány vazby a korelace, podobně jako s meteorologickými charakteristikami, které jsou také průběžně a paralelně měřené.

Epidemiologické hodnocení

Epidemiologické studie v rámci projektu UFIREG hodnotily krátkodobé účinky UFP na lidskou úmrtnost a nemocnost, zejména ve vztahu ke kardiovaskulárním a respiračním onemocněním. Oficiální statistiky byly použity ke stanovení vztahu mezi koncentrací znečištění ovzduší a denními (příčina-specifická: respirační a kardiovaskulární) hospitalizacemi a úmrtností. Asociace úrovní UFP a zdravotních účinků byly analyzovány pro každé město pomocí Poissonových regresních modelů upravujících řadu matoucích faktorů. Výsledky týkající se účinků UFP na morbiditu a úmrtnost byly v pěti zkoumaných evropských městech heterogenní. Celkově bylo možné pro zvýšení koncentrací UFP detekovat zvýšení počtu hospitalizací a úmrtnosti v dýchacích cestách. Výsledky týkající se kardiovaskulárního zdraví byly méně průkazné. Pochybnosti způsobují:

- a) omezené epidemiologické důkazy o účinku krátkodobé expozice UFP na zdraví;
- b) nedostatečné pochopení toho, zda jsou účinky UFP nezávislé na účincích $PM_{2,5}$ a PM_{10} ;
- c) prozatímní neexistence důkazů o účincích dlouhodobé expozice UFP na zdraví a
- d) málo důkazů o tom, které rozsahy velikostí nebo chemické vlastnosti UFP jsou pro zdraví nejvýznamnější.

Účinky ultrajemných a jemných částic na přirozenou a příčinně specifickou úmrtnost

Údaje o denních úmrtích a hospitalizacích byly shromážděny pro každé z pěti měst. Údaje o denních úmrtích byly shromažďovány pro obyvatele města, kteří zemřeli ve městě. Údaje o denních hospitalizacích pro každé město byly shromážděny pro obyvatele města, kteří byli hospitalizováni ve městě. Zvažovány byly pouze běžné (bez denní nemocnice) a akutní (žádné

plánované) hospitalizace, protože cílem studie bylo prozkoumat souvislost mezi denními koncentracemi znečišťujících látek a akutními nepříznivými zdravotními následky.

Byly shromážděny také informace o dalších proměnných uváděných jako counfoundry. Zahrnovaly dlouhodobý časový trend (pořadí podle data), indikační proměnné pro všední dny a svátky, meteorologické parametry (teplota vzduchu, relativní vlhkost, barometrický tlak) a – pokud byly k dispozici – epidemie chřipky.

Aplikované kódy ICD 10

Table 3. Outcomes including ICD-10 codes.

	ICD-10 code	Mortality	Hospital admissions
Natural causes of death	A00 – R99	X	
Diabetes	E10 – E14		X
Diseases of the circulatory system	I00 – I99	X	X
Cardiac diseases	I00 – I52	X	X
Ischaemic heart diseases	I00 – I25	X	X
Acute coronary events	I21 – I23	X	X
Arrhythmias	I46 – I49	X	X
Heart failure	I50	X	X
Cerebrovascular diseases	I60 – I69	X	X
Haemorrhagic stroke	I60, I61		X
Ischemic stroke	I63, I65, I66		X
Diseases of the respiratory system	J00 – J99	X	X
Lower respiratory tract infections (LRTI)	J09 – J18 + J20 – J22	X	X
Pneumonia	J12 – J18		X
Chronic obstructive pulmonary disease (COPD)	J40 - J44 + J47	X	X
Asthma	J45 – J46		X

Souvislost mezi látkami znečišťujícími ovzduší a úmrtností nebo hospitalizacemi byla zkoumána pomocí Poissonových regresních modelů umožňujících nadměrnou disperzi. V prvním kroku byl pro všechna města a priori nastaven základní model matoucích faktorů. Tento základní model zahrnoval časový trend (pořadí podle data), den v týdnu, svátky, pokles

populace přítomné ve městě během prázdnin, epidemie chřipky (pokud byly k dispozici), teplotu vzduchu a relativní vlhkost. Ve druhém kroku byly každým městem odhadnuty účinky znečištění ovzduší. Odhady specifické pro město byly shromážděny pomocí metod metaanalýzy.

Byly aplikovány modely s jedním zpožděním od zpoždění 0 (stejný den události) až po zpoždění 5 (pět dní před událostí), aby bylo možno prozkoumat strukturu zpoždění asociace mezi expozicí částicím a zdravotními výsledky. Modely kumulativních účinků byly použity k reprezentaci okamžitých účinků (zpoždění 0-1), opožděných účinků (zpoždění 2-5) a prodloužených účinků (zpoždění 0-5). Města byla vážena podle přesnosti odhadů vlivu specifických pro město. Pro shromažďování odhadů specifických pro město byl použit odhad efektů maximální pravděpodobnosti podle van Houwelingen (van Houwelingen et al., 2002). Byla testována heterogenita mezi odhady vlivu specifických pro město pomocí testu Chí-kvadrát a kvantifikací stupně heterogenity pomocí indexu I². I² 50 % znamená střední heterogenitu a I² alespoň 75 % je index vysoké heterogenity mezi odhady specifickými pro město.

Pro analýzu zdravotních účinků UFP byl použit pouze rozsah velikostí 20 až 100 nm kvůli relativně vysoké nejistotě měření v menším rozsahu velikostí 10 až 20 nm. Účinky UFP na mortalitu a počet hospitalizací byly uvedeny jako procentuální změny v relativním riziku spojené s každým zvýšením denního UFP o 1 000 částic/cm³.

Souhrnné relativní riziko **přirozené úmrtnosti** se zvýšilo o 0,36 % (95% interval spolehlivosti: [-0,27, 1,00]) ve spojení se zvýšením denního UFP o 1 000 částic/cm³ se zpožděním jednoho dne (1. zpoždění). Asociace však nebyla statisticky významná a pro jiné časové prodlevy nebylo možné nalézt žádné zvýšení přirozené úmrtnosti ve spojení se zvýšením UFP.

Výsledky kardiovaskulární mortality byly podobné, což ukazuje na opožděné zvýšení souhrnného relativního rizika se zvýšením denní koncentrace UFP. Nejsilnější účinek byl zjištěn se zpožděním tří dnů, což ukazuje na zvýšení rizika kardiovaskulární mortality o 0,33 % [-0,57, 1,24] ve spojení se zvýšením denního UFP o 1 000 částic/cm³. Celkově však nebylo možné pozorovat žádné významné zvýšení přirozené ani kardiovaskulární mortality v souvislosti se zvýšením UFP.

Souvislost mezi UFP a respirační mortalitou byla pozorována ve čtyřech městech. Zvýšení denní koncentrace UFP bylo spojeno s 2,13% [-0,43, 4,75] zvýšením rizika respirační mortality s pětidenním zpožděním.

Byly nalezeny nesignifikantní souvislosti mezi UFP a **hospitalizacemi** z důvodu kardiovaskulárních onemocnění. Autoři však zjistili nárůst hospitalizací kvůli respiračním onemocněním v souvislosti se zvýšením koncentrace UFP. Sdružené relativní riziko se významně zvýšilo se zvýšením UFP v 2denním průměru (1,44 % [0,38, 2,53]), stejně jako se zvýšením UFP v 6denním průměru (1,74 % [0,35, 3,16]).

6.3. Projekt ADAIR

Projekt ADAIR (Alzheimer disease and air pollution) byl financován v rámci výzvy JPCO-Fund pro personalizovanou medicínu z roku 2019 pod číslem grantu JPND2019-466-037. Řešení a financování projektu ADAIR je naplánováno v letech 2019 až 2022. Jedná se o společný program EU – projekt výzkumu neurodegenerativních chorob (JPND). Projekt je podporován prostřednictvím následujících finančních organizací pod záštitou JPND – www.jpnd.eu (Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy, Česká republika; Finská akademie, Finsko; Národní úřad pro výzkum, vývoj a inovace, Maďarsko; Ministerstvo Vzdělávání, univerzity a výzkum, Itálie, ZonMW – Nizozemská organizace pro výzkum a vývoj ve zdravotnictví, Nizozemsko, Švédská rada pro výzkum, Švédsko).

ADAIR používá přístup precizní medicíny ke stratifikaci jednotlivců do podskupin pro odhad rizika a budoucí prevenci AD (Alzheimerova nemoc), s konečným cílem zaměřit se na účinky způsobené znečištěním ovzduší u těch jednotlivců, kteří z nich mohou mít největší prospěch. Projekt zkoumá novou, ambiciózní hypotézu, že prostředí vystavené polutantům u jednotlivce mění buněčné mechanismy a funkce, což vede k expresi měřitelných biomarkerů. Identifikací biomarkerů mohou být jedinci se zvýšeným rizikem AD stratifikováni před propuknutím onemocnění a preventivní opatření mohou být zacílena na specifické rizikové populace, aby byla co nejúčinnější.

Hlavní cíle jsou:

- Nalézt biomarkery účinků látek znečišťujících ovzduší. Korelovat biomarkery s rizikem AD, aby bylo možné identifikovat podskupiny jedinců se zvýšenou náchylností k účinkům látek znečišťujících ovzduší.
- Lépe porozumět tomu, jak je prostředí expozice spojeno se složitými mechanismy onemocnění, které jsou základem AD, a tím připravit cestu pro budoucí terapeutické přístupy.

Konkrétní cíle jsou:

- Identifikace biomarkerů akutní expozice znečištění ovzduší u lidí pomocí vysoce výkonných -omik.
- Korelace expresi identifikovaných biomarkerů v akutních expozicích dlouhodobé expozici znečišťujícím látkám ve vzorcích ze studií Betula a Rotterdam pomocí nových nástrojů integrace dat.
- Určit hodnotu biomarkerů pro hodnocení rizika AD měřením biomarkerů během klinického průběhu AD u lidí žijících v oblastech s nízkým a vysokým znečištěním.
- Zjistit, jak expozice látkám znečišťujícím ovzduší vede k buněčné dysfunkci, a to posouzením funkčních změn a vyvolaných buněčných mechanismů.
- Posouzení, zda lze stav znečištění ovzduší použít k identifikaci podskupin jedinců s vysokým rizikem rozvoje AD.
- Poskytnout důležité informace pro preventivní zásahy s ohledem na vystavení znečištění ovzduší a riziko AD, které lze použít k indikaci potenciálu prevence u jednotlivců.

Závěrečná zpráva ani průběžné zprávy nejsou dosud k dispozici.

6.4. Program EU TUBE

Transport derived Ultrafines and the Brain Effects (Ultrajemné částice vznikající dopravou a jejich účinky na mozek)

Program EU TUBE je financován z prostředků programu Horizont 2020 - rámcového programu pro výzkum a inovace (2014-2020) z výzvy H2020-EU.3.4. - SOCIÁLNÍ VÝZVY - Inteligentní, ekologická a integrovaná doprava, LC-MG-1-1-2018 - Vlajková loď InCo zaměřená na snižování vlivu dopravy na kvalitu ovzduší. Režim financování: RIA - akce pro výzkum a inovace, Výkonná agentura pro inovace a sítě (INEA). Doba řešení projektu je 2019 - 30. duben 2023

Koordinátorem je Univerzita východního Finska, profesor Pasi Jalava, jedním z účastníků je Ústav experimentální medicíny Akademie věd ČR

Cílem projektu „Transport-Derived Ultrafines and the Brain Effects“ (TUBE) je zvýšení znalostí o škodlivých ultrajemných látkách znečišťujících ovzduší a také o semivolatilních sloučeninách souvisejících s jejich nepříznivými účinky na zdraví. Zahrnutím všech hlavních současných technologií spalování a regulace emisí si projekt klade za cíl poskytnout nové informace o nepříznivých zdravotních dopadech současné dopravy. A také podklady pro osoby s rozhodovací pravomocí, při přípravě účinnější emisní legislativy. Projekt má zahrnovat a hodnotit i nepříznivé zdravotní účinky UFP mimo dýchací systém. Cílem je posoudit, jak znečištění ovzduší ovlivňuje mozek a jak mohou být z mozku odstraněny částice, jejichž zdrojem je znečištění ovzduší.

Projekt vychází ze současného stavu poznání o vlivu pevných částic různých aerodynamických velikostí v ovzduší a jejich dosud popsaném vlivu na lidské zdraví. WHO odhaduje, že 99 % světové populace dýchá vzduch obsahující vysoké úrovně znečišťujících látek, zejména pevných částic (PM), které překračují doporučené limity. Dýchací systém je hlavním cílovým orgánem znečištění ovzduší, částice se ukládají v celém dýchacím traktu v závislosti na jejich aerodynamické velikosti a morfologii a podle nedávných výzkumů mohou být translokovány z plic do oběhu a sekundárních cílových orgánů. Velmi málo je známo o translokaci částic z čichového epitelu. Bylo prokázáno, že chronická expozice komplexním směsím látek znečišťujících ovzduší v městském prostředí vyvolává toxikologické účinky v mozku, včetně chronického zánětu, oxidačního stresu, ztráty proteinové homeostázy a narušení hematoencefalické bariéry (BBB) [16, 17, 18, 19, 20]. Clearance je rozhodující pro omezení nepříznivých účinků způsobených znečišťujícími látkami; není však známo, jak a zda jsou pevné částice z mozku odstraněny. Zatímco se diskutovalo o spojení látek znečišťujících ovzduší s kognitivním poklesem a neurodegenerativními chorobami, zůstává nejasné, které složky znečištění ovzduší jsou zodpovědné za tyto nepříznivé účinky a jaké jsou molekulární a buněčné mechanismy, které jsou základem spojení mezi zdravím mozku, AD a znečištěním ovzduší. Nedávné experimentální studie poukazují na klíčovou roli ultrajemných částic (UFP)[21]. Antropogenní UFP pocházejí převážně ze spalování a vyznačují se průměrem mobility < 100 nm [22]. Je dobře známo, že inhalační expozice UFP způsobuje plicní

a systémový zánět a oxidační stres. UFP mají několik vlastností, jako je distribuce difúzí a velmi malá velikost, díky čemuž mohou způsobit různé nepříznivé účinky na dýchací systém a oběh, nezávisle na větší velikosti částic. Díky tomu mohou být UFP schopny změnit buněčnou funkci obcházením normálních signálních drah. Kromě toho mají UFP schopnost vstupovat do buněk a způsobit poškození DNA.

S využitím nejmodernějších výzkumných metodologií je cílem projektu:

- Identifikovat znečištění ovzduší, zejména UFP a emise z motorů provozovaných s palivou s vysokým obsahem aromatických látek.
- Popsat reprezentativní emise výfukových plynů ze silničního provozu, včetně těžkých naftových a naftových a benzínových vozů, představující nejnovější technologie kontroly emisí.
- Shromáždit údaje o neregulovaných emisích, aromátech a polyaromatických uhlovodících a také sloučeninách obsahujících dusík v plynných SVOC nebo částic ve výfukových plynech.
- Shromáždit data z měření koncentrací a distribucí UFP z celého světa (Evropa, Chile, Čína), aby bylo možno posoudit vliv rozdílných regulativních opatření, společenské struktury a politikách kvality ovzduší.
- Pomocí modelů in vitro a in vivo ke studiu účinků UFP na dýchací systém a mozek určit, které látky znečišťující ovzduší jsou zodpovědné za nepříznivé zdravotní účinky pozorované u lidí.
- Identifikovat biomarkery pro včasnou detekci mozkových onemocnění souvisejících se znečištěním ovzduší.
- Poskytnout strategie zmírňování emisí ze silničního provozu a nesilničního vybavení a poskytnout údaje, které mohou být použity v budoucnosti k podpoře plánování dopravní politiky.
- Spolupráce s dalšími projekty EU-Horizont 2020 na stejném cíli, kterým je snížení ultrajemných látek znečišťujících ovzduší.

7. Příloha 2: Použité zkratky a pojmy

adukty DNA - molekula DNA nebo její část, ke které byla kovalentně navázána cizí reaktivní chemická látka

AhR –arylhydrokarbonový receptor - regulátor enzymů metabolismu xenobiotik

AOA – adult-onset astma - astma s nástupem u dospělých/ astma dospělých

apoptóza - programovaná buněčná smrt, mechanismus sloužící k eliminaci nepotřebných nebo poškozených buněk

autofagie - buněčný proces, který umožňuje buňce recyklovat staré buněčné komponenty

behaviorální účinky – účinky na chování

BMI – body mass index - index tělesné hmotnosti

CCVD – Cardio-CerebroVascular Disease – srdeční a mozkové cévní onemocnění

CNS - centrální nervový systém/mozek

DNA – deoxyribonucleic acid - deoxyribonukleová kyselina

EDV – end diastolic volum – objem levé komory na konci diastoly

endokrinní disruptory - chemické látky, které narušují činnost žláz s vnitřním vyměšováním v organizmu

epigenetické mechanismy - dědičné změny v genové expresi beze změn v sekvenci DNA

gliální aktivace – aktivace jednoho z typů buněk v mozku

HDL - high density lipoprotein - lipoprotein o vysoké hustotě

CHOPN - chronická obstrukční plicní nemoc

IARC - Agency for Research of Cancer - Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny

ICRP - International Commission on Radiological Protection – mezinárodní komise radiační ochrany

IgA, IgE, IgG – jednotlivé typy imunoglobulinů

ICHS – ischemická choroba srdeční

IL-5, IL-10, IL-8 – interleukiny, patří mezi cytokiny, které se podílejí na regulaci imunitních dějů

IPCS – International Programme of Chemical Safety - Mezinárodní program pro chemickou bezpečnost

kortikální a hipokampální změny – změny v kůře mozkové a v hipokampu, což je párová mosková struktura důležitá pro krátkodobou paměť a prostorovou orientaci

KVO – kardiovaskulární onemocnění

LBW - low birth weight - nízká porodní hmotnost

MPPD model - multiple pass particle dosimetry model - je výpočetní model, který lze použít k odhadu vdechovaných, zadržovaných a vydechovaných částic u lidí a laboratorních zvířat.

mitochondriální dysfunkce – porucha funkce jedné z důležitých vnitrobuněčných organel

neurotransmise - proces komunikace mezi dvěma nervovými buňkami prostřednictvím signálních molekul

OR – odds ratio - poměr šancí

PNC - particles number count - koncentrace počtu částic

P450 (CYP), CYP1A1, 1A2 a 1B1 – enzym cytochrom P450, který má řadu izoform, účastní se biotransformace většiny cizorodých látek v organismu

ROS – reactive oxygen species – reaktivní formy kyslíku

RAW264.7 – buněčná linie makrofágů používaná k pokusům

UFP - ultra fine particles - ultrajemné částice

UFPN - ultra fine particle number - koncentrace počtu ultrajemných částic

US EPA - Environmental Protection Agency of United States - Agentura Spojených států pro ochranu životního prostředí