

OXIDATIVNÍ POTENCIÁL: NOVÝ INDIKÁTOR TOXICITY AEROSOLU

HANA CIGÁNKOVÁ a PAVEL MIKUŠKA

*Ústav analytické chemie AV ČR, v.v.i., Veveří 97, 602 00 Brno, Česká republika
cigankova@iach.cz*

Došlo 24.10.23, přijato 22.1.24.

Částice atmosférického aerosolu jsou celosvětově považovány za významné zdravotní riziko. Přestože přesné mechanismy toxicity aerosolu stále nejsou plně známy, několik studií uvádí, že generování reaktivních sloučenin kyslíku je jedním z hlavních mechanismů, který je zodpovědný za chronické i akutní zdravotní problémy. Z tohoto důvodu byl oxidativní potenciál (OP), definovaný jako schopnost aerosolu generovat reaktivní sloučeniny kyslíku, navržen jako relevantní parametr pro hodnocení toxicity aerosolu. Tento článek popisuje různé acelulární *in vitro* metody stanovení OP a vliv chemického složení a velikosti aerosolu na OP.

Klíčová slova: aerosol, oxidativní potenciál, acelulární metody

Obsah

1. Úvod
2. Hodnocení toxicity atmosférického aerosolu
3. Přehled acelulárních *in vitro* metod pro stanovení oxidativního potenciálu
 - 3.1. Dithiothreitol
 - 3.2. Tekutina dýchacích cest
 - 3.3. Kyselina askorbová
 - 3.4. Dichlorofluorescein
 - 3.5. Elektronová spinová rezonance
 - 3.6. On-line a off-line metody stanovení oxidativního potenciálu
4. Vliv velikosti aerosolu na oxidativní potenciál
5. Vliv chemického složení aerosolu na oxidativní potenciál
6. Závěr

1. Úvod

Podíl obyvatel žijících ve městech neustále narůstá. Při zachování současného trendu je očekáváno, že do roku 2050 bude 68 % populace žít v městských oblastech¹. Jedním z hlavních problémů spojených se zvýšenou urbanizací je znečištění ovzduší a jeho dopad na životní prostředí a lidské zdraví. Dlouhodobá expozice atmosférickému aerosolu (particulate matter, PM) byla potvrzena jako příčina mnoha zdravotních problémů (např. astma, chronické respirační a kardiovaskulární choroby, snížená funkce plic, diabetes), které mohou vést až k předčasným úmrtím^{2,3}. Podle Evropské agentury pro životní prostředí je expozice jemným částicím aerosolu (částice s aerodynamickým

průměrem menším než 2,5 μm , PM_{2,5}) příčinou 471 000 předčasných úmrtí ročně⁴.

PM lze klasifikovat mnoha způsoby. Hlavním kritériem charakterizace jejich schopnosti se po vdechnutí aerosolu deponovat v dýchacím ústrojí je jejich aerodynamický průměr. Agentura EPA (Agentura pro ochranu životního prostředí, angl. Environmental Protection Agency, USA) dělí PM do dvou hlavních velikostních kategorií na základě jejich předpokládané schopnosti pronikat do plic: a) hrubé částice (částice o průměru menší než 10 μm , PM₁₀) a b) jemné částice (PM_{2,5})⁵.

Přestože účinek expozice PM závisí i na fyzikálních charakteristikách (např. na objemu vdechnutého vzduchu nebo způsobu a rychlosti dýchání), velikost částic je uváděna jako hlavní faktor ovlivňující potenciální negativní účinky aerosolu na lidské zdraví. Obecně platí, že čím menší částice je, tím hlouběji do dýchacího ústrojí pronikne. V minulosti byla za nejškodlivější považována hrubá frakce⁶. Při dýchání ovšem působí řasinky a hlen v horních dýchacích cestách jako velmi účinné filtry na zachycení většiny částic hrubé frakce. Tyto částice jsou následně z dýchacího ústrojí mechanicky odstraněny (kýchlání, kašláním nebo polykáním), a tudíž se nemohou ukládat hlouběji v dýchacím ústrojí. Z toho důvodu byla později pozornost zaměřena spíše na jemné a ultrajemné částice (částice o průměru menší než 0,1 μm), které jsou schopné penetrovat hlouběji do dýchacího ústrojí^{7,8}. Částice jemné frakce se mohou usazovat v průdušinkách nebo plicních sklípcích. Ultrajemné částice, které se chovají podobně jako molekuly plynu, mohou dokonce přes plicní buňky proniknout do krevního řečiště, které umožní jejich distribuci do dalších orgánů, jako jsou játra, ledviny, srdce nebo mozek^{5,9}.

Dalším důležitým faktorem, který ovlivňuje potenciální toxicitu částic, je jejich chemické složení. PM obsahuje anorganické ionty (např. chloridy, sírany, dusičnany, amonné ionty), prvky, saze, organické sloučeniny (např. polycyklické aromatické uhlovodíky, sacharidy, alkany), biologické produkty (např. buněčné fragmenty, pyly, viry, bakterie) a vodu⁵. Některé složky PM, buď samostatně, nebo jako součást směsi, mohou negativně působit na lidské zdraví. Například polycyklické aromatické uhlovodíky, chinony a přechodné kovy jsou spojovány s tvorbou reaktivních sloučenin kyslíku (ROS, reactive oxygen species) způsobujících oxidaci biomolekul vedoucí k oxidačnímu stresu¹⁰.

Pro hodnocení možných negativních účinků aerosolu na lidské zdraví je používána převážně hmotnostní koncentrace PM, která se využívá pro základní charakterizaci PM a je většinou stanovována v jednotkách $\mu\text{g m}^{-3}$ (cit.⁶). Na hmotnostní koncentraci aerosolu jsou založené i aktuální mezinárodní normy pro hodnocení kvality ovzduší¹¹. Zvýšení hmotnostní koncentrace PM_{2,5} o $10 \mu\text{g m}^{-3}$ je statisticky spojováno s 9% zvýšením rizika předčasného úmrtí¹².

Přestože je hmotnostní koncentrace PM v současnosti stále používána jako indikátor škodlivosti aerosolu, tak v novějších studiích přestává být považována za správný parametr pro zhodnocení potenciální toxicity a negativních účinků PM na lidské zdraví. Hmotnostní koncentrace nezohledňuje různé velikosti PM, chemické složení PM a interakce mezi jednotlivými složkami PM nebo s jinými znečišťujícími látkami. Na negativní účinky částic na zdraví se ve skutečnosti podílí více faktorů, proto nelze škodlivost PM popsat pouze jedním faktorem, kterým je hmotnostní koncentrace¹³. Často se stává, že hlavní chemická složka (např. levoglukosan^{14–16}), která je velkým přispěvatelem k hmotnosti PM, má nízkou nebo žádnou toxikologickou aktivitu, a tudíž vyvolá mírné nebo žádné negativní účinky na lidské zdraví. Naopak minoritní nebo stopové chemické složky aerosolu^{17,18} (např. toxické prvky jako As, Cd, Hg atd.) mohou mít vysokou toxikologickou aktivitu, a proto mohou i přes svůj nízký příspěvek k hmotnosti PM negativně ovlivnit lidské zdraví^{19,20}. Z těchto důvodů může hmotnostní koncentrace aerosolu nebo jeho komponent podhodnocovat reálný dopad PM na lidský organismus.

2. Hodnocení toxicity atmosférického aerosolu

Oxidační stres je nevyhnutelným aspektem aerobního života buněk. Je výsledkem nerovnováhy mezi produkcí ROS a antioxidantů^{21,22}, kdy nadprodukce ROS překoná antioxidační obranu za vzniku oxidačního stresu. Oxidační stres vede k různým onemocněním včetně kardiovaskulárních chorob, neurologických poruch, cukrovky a rakoviny. Poškození biomolekul (např. DNA, bílkoviny, lipidy) pomocí ROS vede k metabolickým poruchám, poškození dusíkatýchází nebo narušení řetězců DNA^{23,24}.

ROS jsou deriváty molekulárního kyslíku (např. O_2^- , $\bullet\text{OH}$, H_2O_2) mající jeden nebo více nepárových elektronů, které je činí vysoce reaktivními²⁵. Do organismu se ROS dostávají na inhalovaných PM (cit.^{26,27}) nebo mohou být generovány *in vivo* redox-aktivními složkami PM, jako jsou např. přechodné kovy nebo chinony^{28,29}.

V dnešní době se do popředí zájmu dostává studium OP aerosolu, který je definován jako schopnost aerosolu a jeho složek generovat ROS způsobující oxidační stres. OP zohledňuje různé velikosti PM, chemické složení PM, toxické účinky jednotlivých složek, interakce jednotlivých složek s jinými znečišťujícími látkami a je považován za relevantnější měřítko zhodnocení negativních účinků aerosolu na lidské zdraví než hmotnostní koncentrace PM nebo koncentrace jednotlivých složek PM (cit.³⁰).

Pro měření OP bylo vyvinuto několik metod. *In vitro* buněčné metody využívají k hodnocení účinku PM buněčné kultury (makrofágy, epitelové buňky)^{31–33}. *In vitro* acelulární metody jsou založeny na spotřebě molekuly reagentu nebo přímém měření tvorby ROS z extraktů PM (cit.^{34–36}). *In vivo* metody jsou založeny na expozici zvířat nebo lidí PM a vyhodnocení biomarkerů pro oxidační stres v krvi, moči nebo kondenzátu vydechaného vzduchu^{37–40}.

3. Přehled acelulárních *in vitro* metod pro stanovení oxidačního potenciálu

Acelulární *in vitro* metody jsou snadno reprodukovatelné v laboratořích, relativně levné, vyžadují méně kontrolované prostředí a umožňují rychlejší stanovení OP než *in vivo* nebo *in vitro* buněčné metody. Mezi acelulární metody stanovení OP se řadí dithiothreitol (DTT), glutathion (GSH), askorbová kyselina (AA), tekutina dýchacích cest (RTLTF), dichlorofluorescein (DCFH) a elektronová spinová rezonance (ESR). Metody DTT, GSH, RTLTF a AA měří rychlost úbytku chemických peroxosloučenin pro buněčnou redukční činidla (DTT) nebo antioxidanty (GSH, RTLTF, AA), která je přímo úměrná tvorbě ROS, zatímco DCFH měří ROS vázané na PM pomocí fluorescenční sondy a ESR měří tvorbu ROS prostřednictvím elektronové spinové rezonance⁴¹.

V současné době není žádná z výše uvedených metod považována za standardní metodu pro měření OP. Vzhledem k tomu je často pro měření OP stejného vzorku PM použito současně více acelulárních *in vitro* metod, což umožňuje lepší zhodnocení reálného OP částic aerosolu⁴¹.

3.1. Dithiothreitol

Jednou z nejpoužívanějších metod pro určení OP je dithiothreitol (DTT). DTT, známý také jako Clelandovo činidlo, působí jako acelulární náhrada buněčných redukčních látek (např. NADH/NADPH). Cílem DTT metody je napodobit interakci mezi fyziologickými redukčními činidly a aerosolovými složkami čistě za pomoci chemické analýzy⁴². Oxidací DTT redox-aktivními složkami PM

vzniká stabilní cyklický disulfid a současně dochází k přenosu elektronů z DTT na molekulární kyslík, což vede ke generaci superoxidového radikálu a dalších ROS (cit.^{36,42}).

Při inkubaci DTT s extraktem PM nebo extraktem kovu dochází k oxidaci DTT a vzniku ROS. Neoxidovaný DTT pak v několika časových intervalech reaguje s 5,5'-disulfandiylbis(2-nitrobenzoovou kyselinou) (DTNB) za vzniku 2-nitro-5-sulfanylbenzoové kyseliny (TNB). Koncentrace vzniklé TNB je určena pomocí UV-Vis spektrofotometrie při vlnové délce 412 nm (cit.⁴³). OP se vypočítá z míry úbytku DTT, která je přímo úměrná koncentraci redox-aktivních látek. Výsledný OP je možné normalizovat objemem prosátého vzduchu pro posouzení expozice člověka redox-aktivním látkám nebo hmotnostní koncentrací částic pro posouzení schopností PM vyčerpávat příslušné antioxidanty³⁶.

3.2. Tekutina dýchacích cest

Tekutina dýchacích cest (respiratory track lining fluid, RTLFL) obsahuje vysoké koncentrace nízkomolekulárních antioxidantů (askorbová kyselina, močová kyselina a redukovaný glutathion), které zajišťují ochranu dýchacích cest⁴². Tato metoda deteguje rychlost úbytku koncentrace molekul všech tří nízkomolekulárních antioxidantů ve zjednodušeném roztoku RTLFL (pH 7,0). Vzorek aerosolu je inkubován v roztoku RTLFL při 37 °C po dobu 4 h. Po inkubaci je pomocí HPLC (cit.³⁴) nebo UV-Vis metody změřen úbytek askorbové a močové kyseliny. Koncentrace redukovaného glutathionu se nepřímou vypočítá měřením koncentrací celkového glutathionu a glutathiondisulfidu pomocí metody enzymové recyklace. Míra úbytku antioxidantů v RTLFL roztoku je přímo úměrná oxidativnímu potenciálu PM (cit.^{35,36}).

3.3. Askorbová kyselina

AA (vitamin C) je přirozeně se vyskytující organická sloučenina s antioxidačními vlastnostmi. Jedná se o fyziologický antioxidant, který se vyskytuje i v tekutinách pokrývajících dýchací cesty a zabraňuje oxidaci lipidů a proteinů⁴⁴. Nejdříve byla AA využívána pro určení oxidačního stresu ve směsi s glutathionem a močovou kyselinou, následně byla vyvinuta zjednodušená verze, založená pouze na AA (cit.⁴⁵).

Metoda s využitím AA je založena na principu její oxidace redox-aktivními složkami PM na dehydroaskorbovou kyselinu za přenosu elektronu na molekulu kyslíku. Vzorky PM jsou inkubovány s fyziologicky relevantními koncentracemi AA, jejíž úbytek je měřen v několika časových intervalech s využitím UV-Vis spektrometrie při vlnové délce 265 nm). Oxidativní potenciál PM je následně vypočítán z rychlosti oxidace AA (cit.⁴⁴⁻⁴⁶).

3.4. Dichlorofluorescein

Dichlorodihydrofluorescein (DCFH) je používán při kvantifikaci ROS, které jsou navázané na částice. Metoda je široce používána pro vizualizaci atmosférických ROS, ROS vzniklých cigaretovým kouřem a spalováním nafty, stanovování OP nanočástic a také pro měření aktivity ROS v alveolárních makrofágových buňkách laboratorních zvířat. Jedná se o nefluorescenční činidlo, které se při oxidaci v přítomnosti ROS stává fluorescenčním dichlorofluoresceinem (DCF). Koncentraci vzniklého DCF lze s využitím fluorescenčních technik měřit při excitačních a emisních vlnových délkách 485 a 530 nm. Výslednou intenzitu fluorescence lze převést na ekvivalenty peroxidu vodíku. Peroxid vodíku je schopen DCFH oxidovat pouze za přítomnosti katalyzátoru (křemenná peroxidasa), což může vést k nadhodnocenému odhadu měřeného oxidativního potenciálu, jelikož přítomnost katalyzátoru indukuje až trojnásobné zvýšení oxidace DCFH (cit.⁴⁷).

3.5. Elektronová spinová rezonance

ESR je jedinou nebudoucí metodou, která poskytuje přímou kvantifikaci látek obsahujících nepárové elektrony (volné radikály, ionty přechodných prvků). Jedná se o nákladnou a komplikovanou instrumentální metodu využívající přístroj s nedostatečnou citlivostí vzhledem k nízké koncentraci a krátké životnosti radikálů. OP aerosolu je měřen na základě schopnosti PM katalyzovat produkci hydroxylových radikálů prostřednictvím Fentonovy reakce v přítomnosti peroxidu vodíku a 5,5-dimethyl-1-pyrrolin-*N*-oxidu. Vzorky jsou analyzovány na ESR spektrometru a generování hydroxylových radikálů, které je definováno jako oxidativní potenciál, je vypočítáno z průměru celkových amplitud signálu generovaného z ESR spektrometru^{36,48}.

3.6. On-line a off-line metody stanovení oxidativního potenciálu

Pro měření OP částic aerosolu se převážně používají off-line metody. Jejich nevýhodou je ovšem časová náročnost a velké prodlevy mezi odběrem vzorků aerosolu a stanovením ROS, což může vést k podhodnocení OP vzorků. Off-line metody využívají zachycení aerosolu na filtr a následnou chemickou analýzu, což může vést k zreagování a ztrátě některých redox-aktivních sloučenin (např. H₂O₂, organické peroxidy a radikály) v důsledku pozdní analýzy. OP těchto sloučenin může být v případě měření vzorku hned po jeho odběru vyšší než po dnech nebo týdnech skladování filtrů se vzorky PM (cit.^{49,50}). Tento problém může být vyřešen analýzou vzorku ihned po odběru PM pomocí on-line metod, které jsou ovšem komplikovanější na provedení a finančně nákladnější⁵⁰.

Možnosti on-line určení OP jsou studovány relativně krátkou dobu a ještě nejsou dostatečně spolehlivé pro ru-

tiní analýzy⁵⁰. Nejvíce používané on-line metody na měření OP využívají DTT a DCFH. Venkatarachi a Hopke⁴⁸ v roce 2008 publikovali jednu z prvních on-line metod měření OP pomocí DCFH s využitím automatizovaného systému analýzy vzorků založeném na sběru částic do vody a následné detekci ROS pomocí DCFH. Koehler a spol.⁵¹ publikovali v roce 2014 jeden z prvních on-line systémů pro měření OP pomocí DTT. Na tyto práce navázaly další výzkumné týmy, které chtěly tyto systémy upravit a zdokonalit (např. lepší přenosnost nebo smíchání DCFH a peroxidasy těsně před reakcí se vzorkem)^{42,52–59}. Nedávno byla publikována metoda pro on-line měření OP pomocí AA (cit.⁶⁰).

4. Vliv velikosti aerosolu na oxidativní potenciál

Velikost PM je velmi důležitým faktorem pro zhodnocení vlivu PM na lidské zdraví. Vzhledem k vysoké početní koncentraci, velké ploše povrchu a vysoké účinnosti depozice v plicích mohou být ultrajemné částice biologicky aktivnější než částice jemné nebo hrubé frakce^{61,62}. Porovnáním OP hrubé, jemné a ultrajemné velikostní frakce aerosolu bylo potvrzeno, že redoxní aktivita složek aerosolu vzrůstá s klesající velikostí částic PM (cit.^{63–65}).

Velikost částice je velmi důležitá i při výběru konkrétní acelulární metody pro stanovení OP. Bylo zjištěno, že AA je více citlivá na hrubé částice uvolňované především mechanickými a abrazivními procesy, zatímco DTT a DCFH jsou citlivé spíše na jemné částice vznikající hlavně kondenzací a akumulací ultrajemných částic emitovaných při spalovacích procesech⁶⁶. AA je tak citlivější na přechodné kovy (např. Cu^{2+} , Fe^{2+}) v omezeně rozpustné formě, které se nacházejí především v hrubé frakci, kam se dostávají při mechanických a abrazivních procesech (např. otěr brzd). Na kovy rozpustné ve vodě (např. Cu^{2+} , Mn^{2+}) a organické látky (např. 9,10-fenanthrenchinon, 1,2-naftochinon, 1,4-naftochinon), které se uvolňují při spalovacích procesech, jsou naopak citlivější DTT a DCFH. Z těchto důvodů se předpokládá, že vztah mezi velikostními frakcemi PM a jejich OP je vedle velikosti částic ovlivněn i rozdílným chemickým složením PM v různých velikostních frakcích^{67–70}.

Pro přímé porovnání OP PM s různou velikostí částic se používá hmotnostní a objemová normalizace OP. Objemová normalizace více koreluje s vlivem aerosolu na lidské zdraví, zatímco hmotnostní korelace indikuje spíše vliv složení PM a emisních zdrojů aerosolu na OP (cit.⁷¹).

5. Vliv chemického složení aerosolu na oxidativní potenciál

PM se skládá z mnoha organických a anorganických složek, které mohou potenciálně ovlivňovat reakce ROS, a tím přispívat k OP. Mezi hlavní komponenty PM, které

se podílejí na tvorbě ROS, patří především přechodné kovy (např. Fe, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn), organický uhlík, polycyklické aromatické uhlovodíky, chinony, huminové látky (humic-like substances, HULIS) a další^{61,72–75}.

Pro určení toxicity je velmi důležitá speciace kovu v PM. U některých kovů lze odlišovat oxidační stavy (včetně koordinace, počtu a typu ligandů) a formu (např. sraženiny, minerály)⁷⁶. Každý oxidační stupeň určitého prvku má odlišné chemické a fyzikální vlastnosti, které ovlivňují chemické chování prvků, a tudíž jejich toxicitu. Například reaktivita obou oxidačních stavů železa se výrazně liší^{43,70}. Dále bylo zjištěno, že některé přechodné kovy (např. Fe a Cu) tvoří komplexy s organickými sloučeninami, což omezuje jejich výskyt ve volné iontové formě a významně mění jejich OP (cit.⁷⁷).

Další faktor ovlivňující OP kovů je jejich rozpustnost. Přestože nerozpustná frakce kovů může k OP také přispívat^{36,78}, rozpustná frakce kovů je biologicky dostupnější, a tudíž více přispívá k OP (cit.⁷⁹). Přechodné kovy se často vyskytují v PM v omezeně rozpustné formě, ale jejich rozpustnost může být značně zvýšena v přítomnosti anorganických aniontů, jako jsou sírany a dusičnany^{80–82}, nebo komplexací kovu s organickými látkami⁸³.

Ovlivnění OP je připisováno také široké škále organických sloučenin v PM (např. chinony a polycyklické aromatické uhlovodíky). Částice přítomné v emisích ze spalovacích procesů (např. spalování biomasy, uhlí nebo plastů, spalovací motory v dopravě atd.) obsahují chinony, nitro- a oxoderiváty PAH a halogenované aromatické uhlovodíky, které souvisejí s redoxní aktivitou PM (cit.^{84,85}). Tyto sloučeniny mohou být zapojeny do redoxního cyklu vedoucímu ke vzniku ROS (cit.^{86,87}). Velmi často bývá tvorba ROS spojována s chinony, které mohou sloužit jako katalyzátory pro přenos elektronů z látek nahrazujících biologicky redukční látky, jako je NADH, NADPH nebo askorbát, na kyslík. Dva *o*-chinony (9,10-fenanthrenchinon a 1,2-naftochinon) a jeden *p*-chinon (1,4-naftochinon) byly pomocí DTT a AA identifikovány jako významní přispěvatelé k OP (cit.^{43,46,88–90}).

6. Závěr

Snaha o nalezení komplexnějšího parametru pro hodnocení negativních vlivů aerosolu na lidské zdraví vedla k vývoji mnoha technik pro měření OP. OP je považován za relevantnější způsob zhodnocení negativních účinků aerosolu na lidské zdraví než hmotnostní koncentrace PM nebo koncentrace jednotlivých složek PM (cit.^{30,45}), které se v současnosti stále používají jako indikátory potenciálních negativních účinků PM na lidské zdraví, OP tak může v budoucnu hrát důležitou roli ve výzkumu toxicity aerosolu. V tomto přehledovém článku jsou diskutovány různé acelulární *in vitro* metody stanovení OP a vliv chemického složení PM a velikosti PM na OP. Je patrné, že studium OP má velký potenciál pro zlepšení hodnocení toxicity aerosolu na lidské zdraví. Ovšem vzhledem k různé citli-

vosti jednotlivých metod pro měření OP na jednotlivé komponenty PM nebo různé zdroje PM je zapotřebí další výzkum této problematiky.

Tato práce vznikla za finanční podpory projektu GA ČR 24-10051S.

Seznam použitých zkratek

PM	atmosférický aerosol (particulate matter)
OP	oxidativní potenciál
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí (Environmental Protection Agency)
DTT	dithiothreitol
DTNB	5,5'-disulfandiybis(2-nitrobenzoová kyselina)
AA	askorbová kyselina
ROS	reaktivní sloučeniny kyslíku (reactive oxygen species)
DCFH	2',7'-dichlorofluorescein
GSH	glutathion
RTLF	tekutina dýchacích cest (respiratory track lining fluid)
NADH	nikotinamidadeninukleotid, redukováná forma
NADPH	nikotinamidadeninukleotidfosfát
TNB	2-nitro-5-sulfanylbenzoová kyselina
HULIS	humínové látky

LITERATURA

- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division: World Urbanization Prospects: The 2018 Revision, ST/ESA/SER.A/420 (2019). <https://population.un.org/wup/publications/Files/WUP2018-Report.pdf>, staženo 15. 9. 2023.
- Guaita R., Pichiule M., Maté T., Linares C., Díaz J.: *Int. J. Environ. Res. Health Res.* 21, 260 (2011).
- Perez L., Tobías A., Querol X., Pey J., Alastuey A., Díaz J., Sunyer J.: *Environ. Int.* 48, 150 (2012).
- European Environment Agency: Air quality in Europe – 2020 report (2020). <https://www.eea.europa.eu/publications/air-quality-in-europe-2020-report>, staženo 15. 9. 2023.
- Kim K.-H., Kabir E., Kabir S.: *Environ. Int.* 74, 136 (2015).
- Ostro B.: *Arch. Environ. Health* 48, 336 (1993).
- Shiraiwa M. a 21 spoluautorů: *Environ. Sci. Technol.* 51, 13545 (2017).
- Chen R., Hu B., Liu Y., Xu J., Yang G., Xu D., Chen C.: *Biochim. Biophys. Acta* 1860, 2844 (2016).
- Aalapati S., Ganapathy S., Manapuram S., Anumolu G., Prakya B. M.: *Nanotoxicology* 8, 786 (2014).
- Øvrevik J.: *Int. J. Mol. Sci.* 20, 4772 (2019).
- Decesari S., Sowlat M. H., Hasheminassab S., Sandrini S., Gilardoni S., Facchini M. C., Fuzzi S., Sioutas C.: *Atmos. Chem. Phys.* 17, 7721 (2017).
- Yin P. a 10 spoluautorů: *Environ. Health Perspect.* 125, 117002 (2017).
- Bouwmeester H. a 19 spoluautorů: *Nanotoxicology* 5, 1 (2011).
- Mikuška P., Křůmal K., Večeřa Z.: *Atmos. Environ.* 105, 97 (2015).
- Mikuška P., Kubátková N., Křůmal K., Večeřa Z.: *Atmos. Pollut. Res.* 8, 576 (2017).
- Křůmal K., Mikuška P., Večeřa Z.: *Atmos. Pollut. Res.* 8, 930 (2017).
- Mikuška P., Vojtěšek M., Křůmal K., Mikušková-Čampulová M., Michálek J., Večeřa Z.: *Atmosphere* 11, 688 (2020).
- Cigánková H., Mikuška P., Hegrová J., Pokorná P., Schwarz J., Krajčovič J.: *Aerosol Air Qual. Res.* 21, 200556 (2021).
- Park M. a 15 spoluautorů: *Sci. Rep.* 8, 17007 (2018).
- Rohr A. C., Wyzga R. E.: *Atmos. Environ.* 62, 130 (2012).
- Shahpoury P., Zhang Z. W., Arangio A., Celo V., Dabek-Zlotorzynska E., Harner T., Nenes A.: *Environ. Int.* 148, 106343 (2021).
- Shuster-Meiseles T., Shafer M. M., Heo J., Pardo M., Antkiewicz D. S., Schauer J. J., Rudich A., Rudich Y.: *Environ. Res.* 146, 252 (2016).
- Ung L., Pattamatta U., Carni N., Wilkinson-Berka J. L., Liew G., White A. J. R.: *Clin. Sci.* 131, 2865 (2017).
- Galanis A., Karapetsas A., Sandaltzopoulos R.: *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 674, 31 (2009).
- Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M.: *Chem.-Biol. Interact.* 160, 1 (2006).
- Arangio A. M., Tong H., Socorro J., Pöschl U., Shiraiwa M.: *Atmos. Chem. Phys.* 16, 13105 (2016).
- Gehling W., Dellinger B.: *Environ. Sci. Technol.* 47, 8172 (2013).
- Lakey P. S. J., Berkemeier T., Tong H., Arangio A. M., Lucas K., Pöschl U., Shiraiwa M.: *Sci. Rep.* 6, 32916 (2016).
- Tuet W. Y., Chen Y., Xu L., Fok S., Gao D., Weber R. J., Ng N. L.: *Atmos. Chem. Phys.* 17, 839 (2017).
- Pietrogrande M. C., Romanato L., Russo M.: *Toxics* 10, 196 (2022).
- Fu H., Liu X., Li W., Zu Y., Zhou F., Shou Q., Ding Z.: *Inflammation* 43, 1948 (2020).
- Figliuzzi M., Tironi M., Longaretti L., Mancini A., Teoldi F., Sangalli F., Remuzzi A.: *Arch. Toxicol.* 94, 2965 (2020).
- MohseniBandpi A., Eslami A., Shahsavani A., Khodaghali F., Alinejad A.: *Sci. Total Environ.* 593-594, 182 (2017).
- Calas A. a 13 spoluautorů: *Atmos. Chem. Phys.* 18, 7863 (2018).
- Gao D., Pollitt K. J. G., Mulholland J. A., Russell A. G., Weber R. J.: *Atmos. Chem. Phys.* 20, 5197 (2020).
- Gao D., Ripley S., Weichenthal S., Pollitt K. J. G.:

- Free Radic. Biol. Med. 151, 7 (2020).
37. Møller P., Loft S.: Environ. Health Perspect. 118, 1126 (2010).
 38. Zhang X. a 10 spoluautorů: Environ. Res. 150, 306 (2016).
 39. Strak M. a 11 spoluautorů: Environ. Health Perspect. 120, 1183 (2012).
 40. Lebedová J. a 10 spoluautorů: Nanotoxicology 12, 290 (2018).
 41. Frezzini M. A., de Francesco N., Massimi L., Canepari S.: Atmos. Environ. 268, 118802 (2022).
 42. Gao S., Fang T., Verma V., Zeng L., Weber R. J.: Atmos. Meas. Tech. 10, 2821 (2017).
 43. Charrier J. G., Anastasio C.: Atmos. Chem. Phys. 12, 11317 (2012).
 44. Pietrogrande M. C., Dalpiaz C., Dell'Anna R., Lazzeri P., Manarini F., Visentin M., Tonidandel G.: Atmos. Environ. 191, 340 (2018).
 45. Visentin M., Pagnoni A., Sarti E., Pietrogrande M. C.: Environ. Pollut. 219, 72 (2016).
 46. Pietrogrande M. C., Bertoli I., Manarini F., Russo M.: Atmos. Environ. 211, 103 (2019).
 47. Hedayat F., Stevanovic S., Miljevic B., Bottle S., Ristovski Z. D.: Chem. Ind. Chem. Eng. Q. 21, 201 (2015).
 48. Rao L. a 10 spoluautorů: Processes 8, 1410 (2020).
 49. Venkatachari P., Hopke P. K.: Aerosol Sci. Technol. 42, 629 (2008).
 50. Carlino A., Romano M. P., Lionetto M. G., Contini D., Guascito M. R.: Atmosphere 14, 256 (2023).
 51. Koehler K. A., Shapiro J., Sameenoi Y., Henry C., Volckens J.: Aerosol Sci. Technol. 48, 489 (2014).
 52. King L. E., Weber R. J.: Atmos. Meas. Tech. 6, 1647 (2013).
 53. Wragg F. P. H., Fuller S. J., Freshwater R., Green D. C., Kelly F. J., Kalberer M.: Atmos. Meas. Tech. 9, 4891 (2016).
 54. Zhou J., Bruns E. A., Zotter P., Stefenelli G., Prévôt A. S. H., Baltensperger U., El-Haddad I., Dommen J.: Atmos. Meas. Tech. 11, 65 (2018).
 55. Sameenoi Y., Panymeesamer P., Supalakorn N., Koehler K., Chailapakul O., Henry C. S., Volckens J.: Environ. Sci. Technol. 47, 932 (2013).
 56. Eiguren-Fernandez A., Kreisberg N., Hering S.: Atmos. Meas. Tech. 10, 633 (2017).
 57. Puthussery J. V., Zhang C., Verma V.: Atmos. Meas. Tech. 11, 5767 (2018).
 58. Puthussery J. V. a 10 spoluautorů: Environ. Sci. Technol. 56, 14605 (2022).
 59. Berg K. E., Clark K. M., Li X., Carter E. M., Volckens J., Henry C. S.: Atmos. Environ. 222, 117132 (2020).
 60. Campbell S. J., Uttinger B., Lienhard D. M., Paulson S. E., Shen J., Griffiths P. T., Stell A. C., Kalberer M.: Anal. Chem. 91, 13088 (2019).
 61. Saffari A., Daher N., Shafer M. M., Schauer J. J., Sioutas C.: Environ. Sci. Technol. 48, 7576 (2014).
 62. Ohlwein S., Kappeler R., Joss M. K., Künzli N., Hoffmann B.: Int. J. Public Health 64, 547 (2019).
 63. Li N., Sioutas C., Cho A., Schmitz D., Misra C., Sempf J., Wang M., Oberley T., Froines J., Nel A.: Environ. Health Perspect. 111, 455 (2003).
 64. Cho A. K., Sioutas C., Miguel A. H., Kumagai Y., Schmitz D. A., Singh M., Eiguren-Fernandez A., Froines J. R.: Environ. Res. 99, 40 (2005).
 65. Venkatachari P., Hopke P. K., Brune W. H., Ren X., Leshner R., Mao J., Mitchell M.: Aerosol Sci. Technol. 41, 97 (2007).
 66. Delfino R. J., Staimer N., Tjoa T., Gillen D. L., Schauer J. J., Shafer M. M.: J. Expos. Sci. Environ. Epidemiol. 23, 466 (2013).
 67. Fang T. a 11 spoluautorů: Atmos. Chem. 16, 6 (2016).
 68. Calas A., Uzu G., Martins J. M. F., Voisin D., Spadini L., Lacroix T., Jaffrezo J. L.: Sci. Rep. 7, 11617 (2017).
 69. Lyu Y., Guo H., Cheng T., Li X.: Environ. Sci. Technol. 52, 6592 (2018).
 70. Cigánková H., Mikuška P., Hegrová J., Krajčovič J.: Sci. Total Environ. 800, 149502 (2021).
 71. Bates J. T. a 10 spoluautorů: Environ. Sci. Technol. 53, 4003 (2019).
 72. Charrier J. G., Richards-Henderson N. K., Bein K. J., McFall A. S., Wexler A. S., Anastasio C.: Atmos. Chem. Phys. 15, 2327 (2015).
 73. Verma V., Rico-Martinez R., Kotra N., King L., Liu J., Snell T. W., Weber R. J.: Environ. Sci. Technol. 46, 11384 (2012).
 74. Verma V., Fang T., Guo H., King L., Bates J. T., Peltier R. E., Edgerton E., Russell A. G., Weber R. J.: Atmos. Chem. Phys. 14, 12915 (2014).
 75. Pirhadi M., Mousavi A., Taghvaei S., Shafer M. M., Sioutas C.: Atmos. Environ. 223, 117197 (2020).
 76. Reeder R. J., Schoonen M. A. A.: Rev. Mineral. Geochem. 64, 59 (2006).
 77. Wei J., Yu H., Wang Y., Verma V.: Environ. Sci. Technol. 53, 1661 (2018).
 78. Shi T., Schins R. P. F., Knaapen A. M., Kuhlbusch T., Pitz M., Heinrich J., Borm P. J. A.: J. Environ. Monit. 5, 550 (2003).
 79. Mukhtar A., Limbeck A.: Anal. Chim. Acta 774, 11 (2013).
 80. Oakes M., Ingall E. D., Lai B., Shafer M. M., Hays M. D., Liu Z. G., Russell A. G., Weber R. J.: Environ. Sci. Technol. 46, 6637 (2012).
 81. Meskhidze N., Chameides W. L., Nenes A.: J. Geophys. Res. 110, D3 (2005).
 82. Fang T., Guo H., Zeng L., Verma V., Nenes A., Weber R. J.: Environ. Sci. Technol. 51, 2611 (2017).
 83. Tapparo A., di Marco V., Badocco D., D'Aronco S., Soldà L., Pastore P., Mahon B. M., Kalberer M., Giorio C.: Chemosphere 241, 125025 (2020).
 84. Risom L., Dybdahl M., Bornholdt J., Vogel U., Wallin H., Møller P., Loft S.: Carcinogenesis 24, 1847 (2003).
 85. Sørensen M., Autrup H., Møller P., Hertel O., Jensen S. S., Vinzents P., Knudsen L. E., Loft S.: Mutat.

- Res., Rev. Mutat. Res. 544, 255 (2003).
86. Squadrito G. L., Cueto R., Dellinger B., Pryor W.: Free Radical Biol. Med. 31, 1132 (2001).
87. Penning T. M., Burczynski M. E., Hung C.-F., McCoull K. D., Palackal N. T., Tsuruda L. S.: Chem. Res. Toxicol. 12, 1 (1999).
88. Verma V., Fang T., Xu L., Peltier R. E., Russell A. G., Ng N. L., Weber R. J.: Environ. Sci. Technol. 49, 4646 (2015).
89. Xiong Q., Yu H., Wang R., Wei J., Verma V.: Environ. Sci. Technol. 51, 6507 (2017).
90. Jiang H., Jang M., Sabo-Attwood T., Robinson S. E.: Atmos. Environ. 131, 382 (2016).

H. Cigánková and P. Mikuška (*Institute of Analytical Chemistry, Czech Academy of Sciences, Brno, Czech Republic*): **Oxidative Potential: A New Indicator of Aerosol Toxicity**

Atmospheric aerosol particles are considered to be a significant health risk worldwide. Although the exact mechanisms of aerosol toxicity are still not fully understood, several studies report that the generation of reactive oxygen species (ROS) is one of the main mechanisms responsible for chronic and acute health problems. For this reason, oxidative potential (OP) which is defined as the ability of an aerosol to generate ROS, has been proposed as a relevant parameter for assessing aerosol toxicity. This article describes different acellular *in vitro* methods to determine OP and the influence of chemical composition and aerosol size on OP.

Keywords: aerosol, oxidative potential, acellular assays

Acknowledgements

This work was supported by the Grant Agency of the Czech Republic under project No. 24-10051S.



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.