

ESTROGENY V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

ENVIRONMENTAL ESTROGENES

HOLOUBEK I., ČADOVÁ L.

RECETOX (Research centre for Environmental Chemistry and EcoTOXicology), MASARYKOVA UNIVERZITA V BRNĚ

Souhrn: Potenciál určitých chemických látek ovlivňovat endokrinní systémy a následně reprodukci a vývoj lidské a zvířecích populací, je v současné době velmi dobře poznán. Existují významné důkazy o tom, že populace lidské i volně žijících organismů byly a jsou škodlivě ovlivňovány expozicí chemickými látkami v prostředí, což je potvrzeno především modulací různých endokrinních systémů. Řada vědeckých studií z poslední doby popisuje endokrinní abnormality u specifických populací ryb, ptáků, savců i člověka (jako důsledek expozice DDT, dalšími organochlorovými pesticidy, tributyltinem a dalšími látkami). Článek popisuje problémy spojené s antropogenními a přírodními estrogeny a jejich účinky.

Klíčová slova: Endokrinní disruptory, přírodní a antropogenní estrogeny

Summary: The potential of certain chemicals to modulate endocrine systems, and thereby interfere with reproduction and development in human and wildlife, is now widely recognised. Correlational evidence suggests that specific populations of animals and humans have been, or currently are being adversely affected by exposure to environmental contaminants that manifest effects through modulation of different endocrine systems. There have been several recent reports of endocrine-mediated abnormalities in specific populations of human, fish, avian, reptilian and mammalian species and human population (for example exposure to DDT, other chlorinated pesticides, tributyltin etc.). Paper describes that problems of anthropogenic and natural estrogens and their effects.

Key words: Endocrine disruptors, natural and anthropogenic estrogens

ÚVOD

Mnoho přírodních i člověkem vyrobených chemických látek vyskytujících se v životním prostředí vykazuje estrogenní aktivitu. Jedním typem těchto látek jsou tzv. environmentální estrogeny, které mají vliv na vývoj a fyziologii organismu velice shodný s estrogeny kontrolou reprodukce organismů. Mohou být jak rostlinného původu - fytoestrogeny (kumestrol, genistein), tak mohou pocházet i z antropogenních zdrojů produkovaných jako pesticidy nebo odpadní produkty při různých výrobních procesech (*o,p'*-DDT, polychlorované bifenylly, atd). Kontaminace organismu je dána převážně potravou.

Environmentální estrogeny iniciují svůj účinek v živém organismu podobně jako endoestrogeny interakcí s jaderným receptorovým systémem (1). Výsledný estrogen-receptorový komplex interaguje s nukleotidovou sekvencí známou jako „estrogen response elements“ (EREs), a tím zahájí transkripci DNA. Tedy všechny estrogeny (environmentální i vnitřní) působí přes receptor tak, že ho z neaktivní formy převedou na aktivní (2).

Toxicita environmentálních estrogenů může zahrnovat celou řadu faktorů a může se projevit několika příbuznými, ale rozdílnými mechanismy. První, nejběžnější, typ toxicity je dán vazbou environmentálních estrogenů na estrogenový receptor a následnou zvýšenou estrogení odpovědí. Toxicita se v tomto případě projeví hyperestrogenismem, nadměrnými fyziologickými efekty estrogenních hormonů (2,3).

Při druhém typu toxicity se spíše uplatní chemické vlastnosti environmentálních estrogenů než hormonální. Je to například tvorba DNA aduktů.

Třetí typ toxicity environmentálních estrogenů je dán nerovnováznou estrogení odpovědí v cílové tkáni. To může nastat dvěma způsoby. Buď se environmentální estrogen váže na receptor, ale výsledná konformace je odlišná od konformace vzniklé s vnitřním estrogenem, čili transkripce i výsledný efekt jsou odlišné. Nebo estrogení odpovědi mohou vykazovat rozdílné dávka-odpověď závislosti.

Estrogeny jsou hormony samičího pohlaví, ale i samčí pohlaví je kromě hlavního hormonu androgenu také dokáže syntetizovat, avšak jeho funkce a cílové orgány jeho působení nejsou zcela objasněny. Pravděpodobně ovlivňuje počet spermií.

VLIV ESTROGENNÍCH LÁTEK NA VÝVOJ

Vznik rakoviny, jak je známo, je dán změnami v genotypu, které se projeví transformací normální buňky na maligní. Ukázalo se, že steroidní hormony jsou zodpovědné za vznik chromozomových abnormalit v tkáňových kulturách. Navíc, u diethylstilbestrolu (DES) a estradiolu byly prokázány genové mutace a inhibice mitózy v *in vitro* buněčných kulturách. Další studie potvrdily, že estrogen může indukovat dva typy genetických změn, numerické chromozomové změny (aneuploidy), které nepředstavují poškození DNA, a strukturální chromozomové aberace, které představují potenciální riziko. Estrogenní látky mohou procházet placentou nebo mohou přecházet z mateřského mléka do novorozence a být tak potenciální rizikem vzniku různých abnormalit v estrogen-cílových tkáních u potomků obou pohlaví. Tyto abnormality zahrnují rakovinu prsu, endometriosu, adenokarcinom dělohy u samičího pohlaví, dále změny v pohlavní diferenciaci, a u samičího pohlaví snížení počtu spermií, benigní hyperplazii prostaty, rakovinu prostaty a varlat a s tím spojené reprodukční problémy. Často se jako modelová estrogení látka používá syntetický estrogen diethylstilbestrol (DES) a jako biologický materiál se nejčastěji používají myši, jelikož zde existuje velice dobrá korelace mezi získanými daty u člověka a u myši.

Biologická aktivita přirozených estrogenů je dána ovlivněním jaderného receptorového proteinu, neboli jsou to ligand-faktory indukující transkripci genu stimulací genové regulace v příslušných buňkách. Analýzou receptor-vazebné aktivity se zjistilo, že environmentální estrogeny působí stejným mechanismem.

Dva hlavní problémy:

- kritická doba expozice (převážně mužského pohlaví) je expozice v děloze

- jak můžeme plod chránit před takovou expozicí?

Zatím odpověď neznáme, je nutné získat celkový obraz expozice estrogeny a nalézt metodu, která nám určí přesnou hladinu expozice.

Velká pozornost je environmentálním estrogenům věnována díky jejich pravděpodobným efektům na vznik rakoviny (převážně prsu) a dalším negativním efektům na zdraví,

převážně reprodukci, lidského organismu. Kromě toho je popsáno mnoho efektů těchto látek na divokou populaci, které ovlivňují plodnost a sexuální vývoj. Domněnka, že environmentální estrogény iniciují vznik rakoviny prsu byla dána zjištěním, že koncentrace PCB a DDE v maligní tkáni žen byla o 50 až 60% vyšší než u zdravých žen. Avšak vzalo-li se do úvahy kouření, korelace se potvrdily pouze v případě PCB. Potvrzení environmentálních estrogénů jako iniciátorů rakoviny prsu proto není definitivní a vyžaduje další studium. Dále byly popsány negativní efekty estrogenních látek na reprodukci mužského organismu (při expozici mužského plodu, případně novorozence prostřednictvím mateřského mléka), dané inhibicí spermatogeneze a snížením počtu spermií. Avšak ani tyto efekty nebyly plně prokázány. Proti tvrzení, že PCBs a / nebo DDE jsou iniciátory rakoviny, hovoří následující zjištění:

- 1 mnoho studií s PCBs ukazuje, že směsi PCBs nejsou estrogenní, slabá estrogenita pozorována u níže chlorovaných PCBs může být dána jejich hydroxylovanými deriváty
- 1 *p,p'*-DDE, hlavní persistentní metabolit 1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorfenyl)ethanu (*p,p'*-DDT), není estrogenní a hladina *o,p'*-DDT, estrogenního členu DDT rodiny, je velmi nízká nebo dokonce pod mezí detekce u většiny environmentálních vzorků
- 1 epidemiologické studie jedinců příležitostně exponovaných relativně vysokými koncentracemi DDT nebo PCBs neukázaly vyšší výskyt rakoviny prsu
- 1 studie ukázaly, že při rakovině prsu není zvýšeno pouze množství organochlorových sloučenin, tedy jiné faktory mohou být kritické pro vznik nádoru.

Určení hormonálních aktivit environmentálních estrogénů vyžaduje znalosti o jejich biopřístupnosti, lipofilítě, metabolismu a farmako-kinetice, které však nejsou zcela popsány a zpravidla se značně liší od steroidních estrogénů.

VZTAH STRUKTURY A ESTROGENNÍ AKTIVITY

Značné množství chemických látek jak přírodních, tak antropogenních, o různé chemické struktury vykazují estrogenní aktivitu. Zatím nelze na základě struktury jednotlivých látek předpovědět, zda-li bude daná látka estrogenní, či nikoli. Ale v zásadě většina estrogenních látek má společné strukturální rysy, a to přítomnost fenolu nebo jeho funkčního ekvivalentu, lipofilitu, odolnost vůči metabolismu, schopnost bioakumulace. Estrogenní látky můžeme rozdělit na přírodní a syntetické. K přírodním estrogénům patří bioflavonoidy a různé mykotoxiny. Rostlinné bioflavonoidy zahrnují spoustu látek rozdílné chemické struktury, jako jsou flavony, flavonony, flavonoly, isoflavony a příbuzné kondenzované produkty (např. kumestrol). Množství rostlinných potravin dále obsahuje jiné zástupce přírodních estrogénů - 17 β -estradiol a estron. Estrogény přírodního původu dále zahrnují vaječné steroidní hormony, značné množství přírodních produktů je produkováno rostlinami a mikroby. Ke kontaminaci živočišných organismů pak často dochází potravou a jejich účinek může být ovlivněn působením střevních bakterií. Dihydroxystilbeny a jeho deriváty jsou zástupci syntetických estrogenních látek. Navíc, některé průmyslové a environmentální chemické kontaminanty vykazují také estrogenní aktivitu a jsou to organochlorované pesticidy (*o,p'*-DDT), methoxychlor a další. K syntetickým estrogénům dále náleží kromě napodobenin neestrogenních hormonů i různé fenolické sloučeniny vznikající při různých průmyslových procesech (výroba fenolických plastů, neionogenních detergentů atd.), dále značné množství průmyslových látek, zemědělských pesticidů a jejich metabolitů, případně chlorovaných derivátů vykazuje estrogenní aktivitu.

Jak tedy může tak velké množství tak strukturálně rozdílných látek vykazovat estrogenní aktivitu? Na tuto otázku budeme

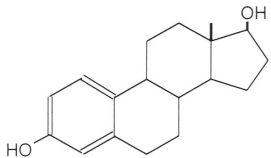
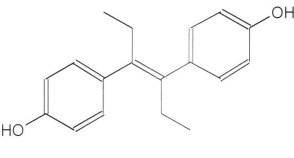
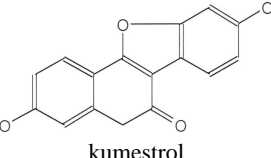
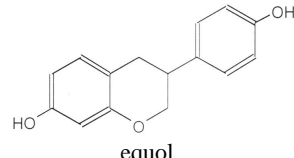
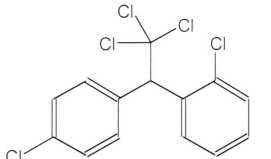
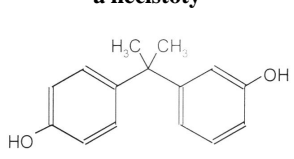
znát odpověď až po důkladném poznání detailní struktury estrogenního receptoru a jeho interakci s ligandy. Přesto dnes můžeme vznést pár zajímavých poznatků:

1 Potenciální estrogény vykazují stimulaci buněčného růstu, a to již při velmi malých koncentracích, např. estrogen vyvolává stimulaci buněčného růstu již v koncentraci 10^{-12} M! (ve skutečnosti tyto efekty estrogénů přesahují jejich afinitu k estrogennímu receptoru).

1 Existuje několik společných strukturálních prvků pro sloučení s estrogenní aktivitou. Většina sloučenin jsou fenoly. Jiné nefenolické aromatické sloučeniny přecházejí na fenoly biotransformací. Některé látky však nejsou ani aromatické (i když to je dosti neobvyklé), ale ty vykazují pouze velmi slabou estrogenní aktivitu. Tedy nejzákladnější společný strukturální prvek je fenol, často s neobsazenou *ortho* polohou, ale obsahující poměrně objemné hydrofóbní struktury v polohách *meta* a *para*. I když se ukázalo, že ani fenolický kruh není nutným požadavkem pro afinitu k estrogennímu receptoru. Proto se neustále provádějí různé vazebné studie, např. se sleduje vliv a role hydroxy-skupiny, důležitost rozpustnosti a molekulární hydrofóbní vlastnosti.

1 Většina estrogénů je hydrofóbní. To je možná důvod, proč mají sloučeniny jako pesticidy, bifenyly (*o,p'*-DDT, DDE, PCBs), methoxychlor, ap. estrogenní aktivitu. Vzhledem k jejich lipofilítě jsou tyto látky akumulovány v lipidických tkáních a membránách, z kterých se pozvolna uvolňují a vyskytují se tak v určité stálé koncentraci v krvi; takováto kontinuální dávka pak může být více efektivní v stimulaci estrogenních odpovědí.

STRUKTURY RŮZNÝCH ESTROGENŮ:

| | |
|--|---|
| <p>Přírodní estrogény</p>  <p>17β-estradiol</p> | <p>Syntetické estrogény</p>  <p>diethylstilbestrol</p> |
| <p>Přírodní produkty</p>  <p>kumestrol</p> | <p>Kontaminanty potravin</p>  <p>equol</p> |
| <p>Pesticidy</p>  <p><i>o,p'</i>-DDT</p> | <p>Komerční chemikálie a nečistoty</p>  <p>bisfenol A</p> |

HODNOCENÍ VSTUPU ENVIRONMENTÁLNÍCH ESTROGENŮ DO ORGANISMU

Vstup a příjem environmentálních estrogénů může být určen na základě tzv. estrogenních ekvivalentů (EQ). Estrogenní ekvivalent směsi je roven součtu koncentrací (EC) jednotlivých látek vynásobených jejich estrogenní potenci (EP), která je vztažena na standard (diethylstilbestrol nebo 17 β -estradiol):

$$EQ = \sum (EC_i \times EP_i)$$

(podobně jako TCDD ekvivalenty).

Estrogenní ekvivalent estrogenních pesticidů je 0,0000025 µg/den, zatímco pro bioflavonoidy je 102 mg/den! Tedy EQ hodnota pro flavonoidy přijaté potravou je 4×10^7 krát vyšší než denní EQ příjem estrogenních pesticidů. Z toho vyplývá minimální podíl těchto průmyslových estrogenů na negativní efekty způsobené environmentálními estrogény; hlavní podíl nesou přírodní estrogény přítomné v potravě. Podobně byly stanoveny antiestrogenní ekvivalenty (TEQ), které jako standard mají TCDD. 1 TEQ se přibližně rovná 1 EQ.

Techniky detekce estrogenity

Estrogenitu nelze určit pouze na základě chemické struktury (ale lze ji předpovědět), k jejímu určení se používají různé biologické metody.

1 Aktivace genu

Určité geny jsou specificky regulovány působením estrogenů skrze estrogenový receptor tak, že komplex estrogen-receptor interaguje s určitým elementem (ERE) v regulační oblasti příslušného genu. DNA sekvence tohoto elementu je značně analogická (změna pouze čtyř bází) sekvenci glukokortikoidního elementu. Metoda genové aktivace je založena na sledování indukce chloramfenikol acetyltransferázy, která je úměrná koncentraci estrogenů, v buňkách obsahujících estrogen-inducibilní promotor (naklonovány k tomuto účelu pomocí genového vektoru nesoucího sekvenci elementu estrogenní odpovědi). Tato technika tedy postihne a je specifická pro látky působící skrze estrogenovým receptorem mediovanou genovou expresi a regulaci.

1 Proliferační kontrola

Estrogeny jsou látky schopné vyvolat mitotickou stimulaci tkání samičího genitálního ústrojí. Proto sledování buněčné proliferace je důležitým klíčem při určování a odhadu estrogenity. Máme-li určit, zda-li je určitá látka estrogenní, musíme sledovat její schopnost indukce proliferace buněk cílových tkání estrogenní odpovědi. Screening estrogenů pomocí samičích tkání není možný, jelikož byla popsána indukce mitotického dělení pouze u samičích sekundárních pohlavních orgánů. U samců je působení estrogenů pravděpodobně zaměřeno na plodnost, která je ovlivněna negativní zpětnou vazbou inhibicí gonadotropinů.

Klasická metoda měření estrogení indukce buněčné proliferace je sledování zvýšené mitosy v epitelu (převážně hlodavců). Tato metoda je však značně náročná a nevhodná pro screening velké množství chemikálií.

V současnosti se používá tzv. E-SCREEN test. Je to *in vitro* test používající buněčnou kulturu rakovinných buněk prsu. Jsou-li buňky pěstovány bez přítomnosti estrogenních látek, neproliferují, ale po přidání estrogenů se jejich proliferace rozběhne. Tato metoda často slouží jako první screening estrogenity. Každá pozitivní odpověď vyžaduje další studium k určení a pochopení metabolismu a mechanismu účinku estrogenních látek.

1 Vitellogenin jako bioindikátor

Vitellogenin (VTG) je fosfolipoglykoprotein a slouží jako hlavní prekurzor proteinů vaječného žloutku. VTG je syntetizován v játrech pod kontrolou estrogenů, zpravidla u dospělých samic, a poté je dopravován do oocytů. Je přítomný v plasmě samic několik měsíců před ovulací. U nedospělých jedinců a u samců není za normálních podmínek detekován, jestliže však detekován je, pak to značí expozici endogenními nebo exogenními estrogény nebo látkami s estrogení aktivitou. Obecně platí, že zvýšené množství vitellogeninu značí zvýšenou expozici environmentálními estrogény. Screening samotného VTG je složitý díky strukturálním variacím mezi jednotlivými živočišnými druhy. VTG je však protein náležející do mutligenové rodiny, která zahrnuje obrovské množství lipoproteinů včetně různých VTGs obratlovců i bezobratlých, a lidské sérové proteiny. Proto bylo

možné vytvoření monoklonální protilátky vůči VTG obratlovců vhodné pro screening estrogenní expozice značného množství živočišných druhů.

1 Laktoferrin jako bioindikátor

Laktoferrin (LF) se používá jako biomarker estrogenity u savců. Je to železo-vázající glykoprotein, náležející do transferinové genové rodiny. Jako každý transferin obsahuje ve své molekule dvě vazebná místa vázající železitý kation Fe^{3+} nebo bikarbonátový anion. Má mnoho biologických funkcí, např. obrana proti bakteriím a virům, podpora DNA syntézy, zapojení do imunitního systému, inhibice růstu nádorů, ap. Má také růst-stimulující aktivitu. Vyskytuje se v malých množstvích v tělních tekutinách, ve vysokých koncentracích pak v neurofilech, mléčných žlázách (při kojení) a v děloze. Jeho množství je regulováno různými mechanismy lišícími se v různých tkáních. Právě jeho indukce estrogény v děloze (nejčastěji myši) se využívá ke screeningu. Množství laktoferrinu v děloze kolísá i během menstruačního cyklu (jako důsledek proměnlivé hladiny vnitřních estrogenů), ale při expozici vnějšími estrogény se jeho hladina zvýší 100 i více násobně.

PŘÍKLADY ENVIRONMENTÁLNÍCH ESTROGENŮ

Environmentální kontaminanty, ftaláty

Chemické látky antropogenních činností často vykazují estrogenní účinky. Tyto chemikálie zahrnují klasické environmentální estrogény, jako o,p'-DDT a jeho metabolity, methoxychlor, PCBs. Nedávno se zjistilo, že i látky z výroby plastů a detergentů (jako alkylfenoly, bisfenol A) vykazují estrogenní vlastnosti. Z různých epidemiologických studií vyplývá, že tyto látky mají nepříznivý vliv na divokou populaci v průmyslových znečištěných oblastech. Estrogeny ovlivňují mnoho vývojových a fyziologických procesů v cílových tkáních a orgánech tím, že regulují aktivitu specifických genů. Jejich působení je zprostředkováno rozpustným intracelulárním receptorem, který působí jako transkripční faktor. Environmentální estrogény se na něj váží přednostněji než přirozený estrogen 17 β -estradiol, ale zda se jedná o přímou kompetici není zatím známo. Ukázalo se, že estrogény působí na mnoha místech, ovlivňují reprodukci, pohlavní žlázy, neuroendokrinní systém, vývoj kostí, ap.

Ftaláty jsou jednou z nejvíce se vyskytujících skupin antropogenních chemikálií v životním prostředí. Jsou průmyslově produkovány ve velkém množství, zvláště jako součásti plastů, z kterých se mohou uvolňovat do vody, půdy a případně i do potravy. Např. butylbenzyl-ftalát se používá při výrobě linolei, adheziv a syntetické kůže; di-n-butyl-ftalát se velice často používá jako změkčovadlo v obalech potravin, v PVC, celulózách. Všudypřítomnost ftalátových esterů ve vodném prostředí je dobře známá a byla popsána jejich kontaminace řek, odpadů, pitné vody, sedimentů i ryb. populace může být těmito látkami exponována potravou či pitím, které mohou být kontaminovány buď samotné, nebo jsou kontaminovány až z použitých obalů. Díky lipofilním vlastnostem mají ftaláty tendenci se akumulovat v tukových tkáních a mohou se efektivně absorbovat přes kůži. V organismu jsou metabolizovány a vylučovány, ale o jejich metabolismu se příliš neví. Orální toxicita ftalátů je pro člověka obecně malá, ačkoli ve vysokých koncentracích působí jako testikulární toxiny u samců a u samic způsobují spontánní potraty. Jejich estrogenní aktivita tedy pravděpodobně ovlivňuje hladinu progesteronu v plasmě - snižuje ji.

Polychlorované bifenoly

Estrogenní receptor je kromě vazby s přirozeným substrátem, estrogenem, schopen vazby i s mnoha dalšími látkami, což může vysvětlovat jejich hormonální působení. Pravděpodobně jednou z nejdůležitějších skupin látek s estrogenní aktivitou jsou polychlorované bifenoly. Výše chlorované isomery jsou biologicky

persistentní díky své vysoké rozpustnosti v tucích a pravděpodobně odolnosti vůči metabolickým transformacím. Nižší chlorované isomery PCBs v organismu podléhají částečnému metabolismu, kdy jsou převedeny na hydroxy-metabolity (většinou v prázdné *para*-poloze). Tyto metabolity, převážně s chlorem v *ortho*-poloze, jsou pak schopny vazby na estrogenní receptor. Bioakumulace těchto metabolitů není problémem, jelikož enzymů zodpovědných za jejich konjugaci a exkreci z organismu je dostatek. Určité riziko může nastat při dlouhodobé expozici PCBs. Kromě PCBs i jiné fenyl-substituované uhlovodíky, jako bifenylyethany a ethyleny podobné diethylstilbestrolu, trifenylyethany, jsou také ligandy estrogenového receptoru.

Pesticidy

20 000 různých domácích pesticidů obsahuje přes 300 aktivních látek a přibližně 1 700 inertních látek. Použití pesticidů má své opodstatnění, jelikož se v domácnosti nejčastěji používají proti různému hmyzu, který může být nepříjemný, ale i zdraví škodlivý (např. pro alergie, u jižních států původci malárie, ap.). Avšak i použití pesticidů může mít negativní účinky na zdraví, zvláště ohroženou skupinou jsou děti do 6 let.

Karbamátové insekticidy

Karbamátové insekticidy, karbaryl a propoxur, jsou nejpoužívanější pesticidy v domácnostech. Mají relativně nízkou akutní toxicitu pro savce. Lidé s nimi velice často zacházejí jako s bezpečnými látkami, což by neměli. Patří totiž do skupiny tzv. anticholinesterázových pesticidů, které působí tak, že inhibují acetylcholinesterázu a tím znemožní uvolnění neurotransmiteru acetylcholinu (narušení přenosu nervového vzruchu). Dále narušují i jiné mechanismy, do kterých je acetylcholinesteráza zapojena, jako je např. imunitní systém.

Organofosfátové insekticidy

Nejčastěji používanými organofosfátovými insekticidy je chlorpyrifos a dichlorvos, které náleží také do skupiny anticholinesterázových pesticidů. Detoxikace organofosfátových pesticidů u člověka i jiných živočišných druhů je značně složitý proces a je zajištěn cytochromy P450. Novorozenci, jejichž hladina detoxikačních enzymů v krvi je velice nízká, tak představují rizikovou skupinu. Organofosfátové pesticidy nahradily starší, persistentnější organochloridové insekticidy, jako DDT, právě z důvodu relativně rychlého odbourávání a ani jejich rezidua nepřetrvávají v přírodě příliš dlouho. V roce 1987 byl však dichlorvos nepodloženě označen za pravděpodobný karcinogen, a tak bylo jeho používání zakázáno. To se podařilo změnit až v roce 1993, kdy WHO vydala prohlášení, že dichlorvos nemá chronické nežádoucí účinky a není mutagení.

Ropné uhlovodíky

Alifatické ropné uhlovodíky jsou šestou nejběžnější aktivní součástí domácích pesticidů. Ropné uhlovodíky zpravidla představují směsi aromatických a alifatických uhlovodíků s různými nežádoucími škodlivými účinky na organismus, jako je narušení nervového systému.

Různé přídavné látky

K pesticidům se často přidávají různé látky ke zlepšení jejich vlastností, zvýšení účinku, ap. K těmto látkám patří např. různá inertní činidla, pyrethryny, ap., která mohou být také nositeli různých nežádoucích účinků pesticidních přípravků. Proto se celkové účinky a působení pesticidních přípravků musí posuzovat z hlediska směsi různých chemických látek, a ne na základě znalostí efektů jedné složky.

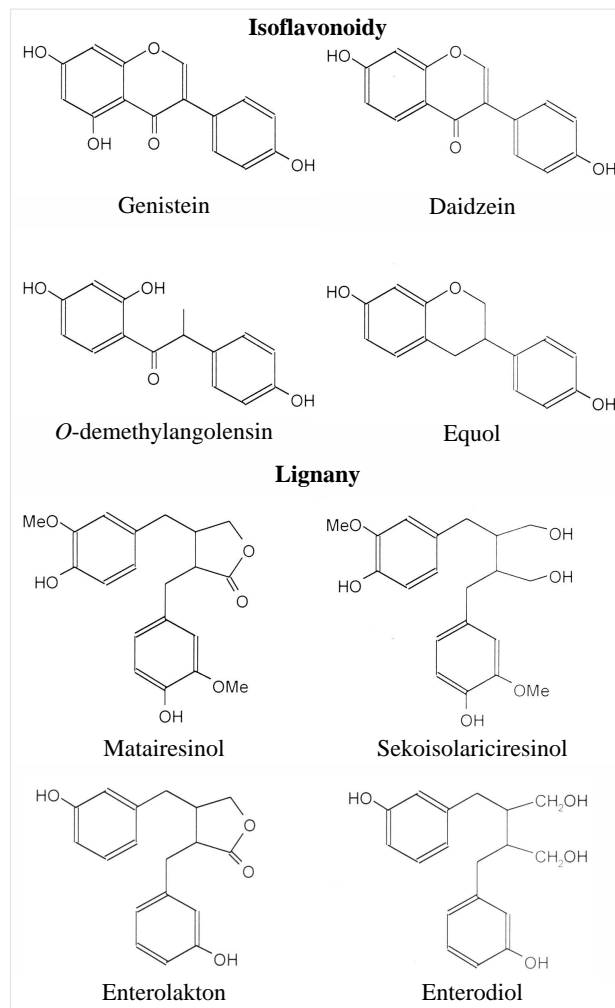
PHYTOESTROGENY - EPIDEMIOLOGIE A JEJICH PRAVDĚPODOBNÁ ROLE V OCHRANĚ PROTI RAKOVINĚ

Některé difenolické fytoestrogeny s hormonální aktivitou mají antikarcinogenní účinky, jsou to především isoflavonoidy

a lignany (3-7). Prekurzory těchto biologicky aktivních sloučenin se nacházejí v sojových bobech (isoflavonoidy), celozrnných cereálních výrobcích, různých semenech a pravděpodobně v ořechách (lignany). Rostlinné lignanové a isoflavonoidové glykosidy jsou střevními bakteriemi převáděny na sloučeniny se slabou hormonální estrogení aktivitou, ale také s antioxidační aktivitou; mají tedy nejenom vliv na metabolismus pohlavních hormonů a jejich biologickou aktivitu, ale ovlivňují také intracelulární enzymy, syntézu proteinů, působení růstového faktoru, proliferaci maligních buněk, diferenciaci. Epidemiologické studie toto zjištění potvrdily, jelikož nejvyšší hladiny těchto sloučenin jsou přítomny v potravě v těch zemích či regionech s nejnižším výskytem rakoviny. Za zmínku stojí, že antibiotika snižují vznik estrogenních a antikarcinogenních látek z rostlinných prekurzorů ve střevě.

Isoflavonoidové fytoestrogeny se vážou na estrogenový receptor a vykazují slabé estrogení účinky. Některé isoflavonoidy a lignany soutěží o vazebné místo receptoru s estrogenem. Mnoho rostlinných lignanů má antikarcinogenní, antivirální, baktericidní a fungistatické účinky. Většina lignanů a flavonoidů jsou pouze slabými inhibitory rakovinných procesů, ale díky značné velkému obsahu v rostlinné stravě je zajištěna jejich dostatečná koncentrace v organismu, aby se snížilo riziko vzniku estrogen-dependentní rakoviny. Zdá se, že lignany a isoflavonoidy mají protektivní roli vůči několika typům rakoviny (rakovina prsu, prostaty, tlustého střeva). Také se zdá, že působí jako prevence kardiovaskulárních chorob a osteoporózy, díky svým estrogením a antioxidačním efektům.

Struktury nejdůležitějších isoflavonoidů a lignanů identifikovaných v lidských vzorcích:



ANTIESTROGENY

Bylo popsáno, že řada environmentálních chemikálií a látek přítomných v potravinách vykazuje tzv. antiestrogenní aktivitu, to znamená, že jsou potenciálními inhibitory estrogenem indukovaných efektů. Zástupci těchto látek jsou TCDD a příbuzné halogenované aromatické sloučeniny (PCDD, PCDF, PCB), které se váží na Ah-receptor. Kromě látek, které se váží na Ah-receptor mají antiestrogenní aktivitu i jiné látky jako vitamin A a příbuzné retinoidy, forbol estery, terpeny, mastné kyseliny a polysacharidy. Mnoho slabých estrogenů, např. bioflavonoidy, mohou v některých koncentracích působit i jako antiestrogeny.

Antiestrogeny jsou podle definice látky zeslabující normální působení endoestrogenů. Inhibují působení estrogenů tím, že soutěží s 17 β -estradiolem o estrogení receptor. Mnoho halogenovaných aromatických sloučenin a dioxinů, jako TCDD, vykazují antiestrogenní vlastnosti, ale jejich působení je mediováno více skrze Ah receptor než prostřednictvím estrogenového receptoru. Podobně i antiestrogenní působení estrogenů vyskytujících se v potravinách, jako některé fytoestrogeny, je pravděpodobně kontrolováno neestrogen-receptorovým mechanismem.

Antiestrogenní aktivita může být škodlivá, jestliže blokuje působení estrogenů během sexuální diferenciace nebo v pubertě. Ale jinak se antiestrogenní aktivita využívá především při léčbě rakoviny způsobené působením estrogenů. Jedním z nejpoužívanějších antiestrogenů je **tamoxifen**, který je efektivní ve všech stádiích rakoviny prsu a v současné době se testuje, zda-li jej nelze využít i k prevenci vzniku nádoru. Tamoxifen patří do velké skupiny syntetických nesteroidních antiestrogenů, které působí jako částečný agonista estrogení aktivity. Naproti tomu tzv. čisté antiestrogeny kompletně blokují estrogení aktivitu, proto mohou být efektivnější při léčbě rakoviny prsu. Zatím je to však ve stadiu vývoje.

Sloučeniny dioxinového typu

Sloučeniny dioxinového typu jsou v popředí zájmu toxikologů z důvodu jejich efektů na vývoj reprodukčního, endokrinního, nervového a imunitního systému u perinatálně exponovaných novorozenců. Za sloučeniny dioxinového typu jsou považovány ty sloučeniny, které se váží na Ah receptor. Jsou to koplární halogen-substituované aromatické sloučeniny s několika kruhy, jako polychlorované dibenzo-*p*-dioxiny (PCDDs), polychlorované dibenzofurany (PCDFs) a některé koplární kongenery polychlorovaných bifenylových směsí. Děti jsou ve větším riziku expozice těmito látkami, a to z několika důvodů: a) fyziologické faktory - menší bariéry při vstupu kontaminantů do organismu přes kůži, zažívací trakt, plíce, a nižší hladina detoxikačních enzymů; b) nutriční faktory - mateřské mléko jako hlavní zdroj výživy, vyšší kalorická hodnota přijímané potravy a vyšší podíl tuku; c) faktory chování - bližší dermální kontakt s vnějším i domácím prostředím, cucání rukou ap.

Biologické aktivity sloučenin dioxinového typu vycházejí z jejich vazby na Ah receptor a iniciace řady biologických efektů. Předpokládá se, že jejich mechanismus působení je dán jejich vlastností „environmentálních hormonů“ působících na endokrinní systém. Po vstupu do organismu „spustí“ řadu inter- nebo intra-buněčných signálů, které mají konečný dopad na buněčný růst, diferenciaci a funkci cílových buněk a orgánů. Vlivy na reprodukci - PCB směsi mají poněkud odlišné efekty než ostatní sloučeniny dioxinového typu. Expozice PCB kojením způsobuje pozdější neplodnost u kojených jedinců samčího pohlaví aniž by bylo ovlivněno množství spermií. Také způsobuje retardaci růstu. TCDD naproti tomu snižuje množství spermií, ale neovlivňuje plodnost u samců, u samic plodnost snižuje. Expozice TCDD přes placentu či mateřským mlékem způsobuje u exponovaného plodu změny v sexuální diferenciaci. Endokrinní efekty - placentární expozice TCDD způsobuje u exponovaných samčích jedinců inhibici spermatogeneze, změny v jejich sexuálním chování.

Efekty na nervový systém - perinatální expozice směsí PCBs

nebo určitými kongenery PCBs má za následek u exponovaných potomků poruchy s prostorovou orientací a pamětí.

Imunologické efekty - sloučeniny dioxinového typu a PCBs ovlivňují diferenciaci buněk imunitního systému, a tím způsobují změny v jejich odpovědi. Např. perinatální expozice PCBs způsobuje až 20násobné zvýšení případů infekčních chorob. Dioxiny se neváží na estrogenový receptor, přesto mohou způsobit jak estrogenní, tak i antiestrogenní efekty. Antiestrogenní efekty jsou dány jejich schopností blokovat estrogení odpověď v rakoviných buňkách prsu a proliferaci v děloze. Avšak dioxiny nejsou klasickými antiestrogeny v klasickém slova smyslu blokující vazbu estrogenu k receptoru. Mohou ovlivňovat metabolismus estrogenů, který může mít za následek snížení aktivity hormonu v cílové tkáni a také snížení počtu estrogenních receptorů. Estrogení vlastnosti dioxinů se podobají některým efektům syntetických estrogenů jako např. diethylstilbestrolu. Estrogení účinky se pravděpodobně uplatňují při vzniku rakoviny jater. Estrogení a antiestrogenní efekty dioxinů závisí na typu tkáně a stupni vývoje dané tkáně. Zdá se, že dioxiny narušují normální homeostázi a hormonální rovnováhu, což se projeví změnami proliferace a diferenciace. U dospělých jedinců mohou takovéto změny vést ke vzniku rakoviny, imunosuprese, chlorakné a endometriosisy. U embrya, případně plodu, pak tyto změny představují riziko vzniku různých malformací, anomálií, funkčních a strukturálních deficitů, které jsou však velice často detekovány až později během růstu jedince.

TCDD

Expozice TCDD normální populace v průmyslových zemích je asi 0,3-0,6 pg/kg.den. Vezmeme-li do úvahy expozici PCBs a jiných sloučenin dioxinového typu, je pak expozice asi 3-6 pg TEQ / kg.den, přičemž TCDD-toxický ekvivalent (TEQ) vyjadřuje toxicitu sloučenin dioxinového typu vztaženou na jednotkovou toxicitu TCDD.

TCDD indukuje řadu různých biochemických a toxických odpovědí v biologických modelech, jako je indukce cytochromu P450 1A1, uridindifosfát-glukuronyltransferázy, chlorakné, imunotoxicita, teratogenita, jaterní léze a karcinogenita. Je známo, že TCDD ovlivňuje proliferaci a diferenciaci buněk v řadě cílových orgánů (kůže, játra, pohlavní orgány, thymus). Vliv a konečný výsledek působení TCDD velice závisí na druhu, stavu jedince a typu exponované tkáně. Studie s laboratorními zvířaty ukázaly potenciální karcinogenní účinky TCDD a epidemiologické studie toto riziko potvrdilo i pro člověka, převážně exponovaného vyššími koncentracemi při různých průmyslových haváriích. TCDD je tedy považován za negenotoxický karcinogen, tzn. že nevytváří adukty s DNA a je negativní v *in vitro* testech na genetickou toxicitu.

Abychom mohli určit potenciální riziko expozice TCDD nebo určitou „bezpečnou“ hladinu expozice TCDD, je nutné znát kvantitativní vztah mezi dávkou a odpovědí. Ačkoli kompletní mechanismus působení TCDD není zcela znám, ví se, že TCDD působí prostřednictvím Ah receptoru, na který se váže. Po vazbě dochází k aktivaci komplexu receptor-ligand, který je schopen vazby na DNA poblíž genu pro cytochrom P450 1A1 a tím způsobí jeho transkripci. Zvýšená indukce tohoto enzymu, případně ještě cytochromu P450 1A2, však nepřímo souvisí s karcinogenitami a jinými toxickými efekty TCDD. Zjistilo se totiž, že i když koncentrace TCDD v játrech se úměrně zvyšuje s dávkou, indukce P450 1A1 (příp. P450 1A2) se zvyšuje více při nízkých dávkách než při vysokých. Tento vztah je popisován jako supralineární. Naproti tomu, indukce uridindifosfát-glukuronyltransferázy (UGT) (deaktivací enzym II. fáze detoxikačního metabolismu mnoha xenobiotik a endogenních hormonů) pravděpodobně hraje důležitou roli ve vývoji funkce, případně vzniku rakoviny štítné žlázy. Aktivace transkripce UGT genu je také mediována Ah receptorem. Indukce UGT vyvolaná krátkodobou expozicí

TCDD nebo sloučenin dioxinového typu zvyšuje glukuronidaci a exkreci tyroxinu do žluče. Tím se sníží koncentrace tyroxinu v štítné žláze, což má za následek zvýšení thyroïd-stimulujícího hormonu. Zvýšená hladina tohoto hormonu pak vede k hyperplasii a hypertrofii thyroïdních folikulárních buněk, které mohou přerůst v neoplazii.

V malých dávkách TCDD způsobuje nekarcinogenní efekty, jako poruchy reprodukce, imunosupresi, poruchy v ývoje, snížení hmotnosti pohlavních orgánů (zvláště u samičího pohlaví). Jeho antiestrogenní vlastnosti jsou dané jeho schopností zamezit transkripci genů, která za normálních podmínek vyžaduje estrogény, a tím inhibicí celé řady estrogenem indukovaných odpovědí, včetně buněčné proliferace v rakovinných buňkách prsu.

V životním prostředí a potravě jsou tedy přítomny jak látky

estrogenní, tak i antiestrogenní, které působí společně na lidský organismus. Odhad rizika působení těchto látek není jednoduchý, jelikož tyto látky působí proti sobě. Důležité je si také uvědomit, že tyto látky neovlivňují jen člověka, ale stejnými efekty působí na řadu populací volně žijících organismů (8, 9).

PODĚKOVÁNÍ:

Príspevek vznikl na základě výsledků výzkumného záměru MŠMT ČR (Zevní prostředí – karcinogeneze – onkologie (CEZJ071400003) a výzkumných projektů TOCOEN (Toxic Organic Compounds in the ENvironment) a BETWEEN (The relationships BETWEEN environmental levels of pollutants and their biological effects).

LITERATURA

1. Hoivik, D. J., Safe, S. H.: Effects of Xenobiotics on Hormone Receptors. In: Toxicant-Receptor Interactions. (M. S. Denison and W. G. Helferich) Taylor and Francis, 1998, Ch. 3, s.53-68.
2. DeRosa, C., Richter, P., Pohl, H., Jones, D. E.: Environmental exposures that affect the endocrine system: public health implications. J. Toxicol. Environ. Hlth. Part B., 1, 1998, s. 3-26.
3. Safe, S. H., Gaido, K.: Phytoestrogens and anthropogenic estrogenic compounds. Environ. Toxicol. Chem. 17, 1998, s. 119-126.
4. Verma, S. P., Goldin, B. R. Goldin, Lin, P. S.: The inhibition of the estrogenic effects of pesticides and environmental chemicals by curcumin and isoflavonoids. Environ. Hlth. Perspect. 106, 1998, s. 807-812.
5. Gaido, K., Dohme, L., Wang, F., Chen, I., Blankvoort, B., Ramammorthy, K., Safe, S. H.: Comparative estrogenic activity of wine extracts and organochlorine pesticide residues in food. Environ. Hlth. Perspect. 106, Suppl. 6., 1998, s. 1347-1351.
6. Kao, Y.-C., Zhou, C., Sherman, M., Laughton, C. A., Chen, S.: Molecular basis of the inhibition of human aromates (estrogen synthetase) by flavone and isoflavone phytoestrogens: a site-ditected mutagenesis study. Environ. Hlth. Perspect. 106, 1998, s. 85-92.
7. Breithofer A., Graumann, K., Scicchitano, M. S., Karathanasis, S. K., Butt, T. R., Jungbauer, A.: Regulation of human estrogen receptor by phytoestrogens in yeast and human cells. J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 67, 1998, s. 421-429.
8. Kendall, R. J., Dickerson, R. L., Giesy, J. P., Suk, W. P. (Eds.): Principles and Processes for Evaluation Endocrine Disruption in Wildlife. SETAC Office, FL USA, 1998, 491 s.
9. Tattersfield, L., Matthiassen, P., Campbell, P., Grandy, N., Lange, R. (Eds.): SETAC-Europe/OECD/EC Expert Workshop on Endocrine Modulators and Wildlife: Assessment and Testing. EMWAT. Veldhoven, The Netherlands, 10-13 April, 1997. SETAC-Europe Publication 1997, 126 s.