

ARKADIUSZ ZASADOWSKI, ADAM WYSOCKI

NIEKTÓRE ASPEKTY TOKSYCZNEGO DZIAŁANIA  
WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH  
(WWA)

SOME TOXICOLOGICAL ASPECTS OF POLYCYCLIC AROMATIC  
HYDROCARBONS (PAHs) EFFECTS

Zakład Toksykologii Weterynaryjnej i Środowiskowej  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski  
10-957 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 14  
Kierownik: prof. dr hab. A. Zasadowski

*Na podstawie piśmiennictwa omówiono zagadnienia związane z właściwościami fizykochemicznymi i toksykologicznymi wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA). Szczególną uwagę zwrócono na procesy prowadzące do powstawania WWA, dystrybucję w środowisku, przemiany metaboliczne oraz potencjalne efekty szkodliwe wynikające z oddziaływania reaktywnych metabolitów z makrocząsteczkami komórkowymi.*

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) zawsze występowały w środowisku, jednak rozwój cywilizacyjny i technologiczny spowodował wzrost narażenia na te związki, co może pociągać za sobą szkodliwe efekty zdrowotne.

WWA są grupą związków chemicznych, które powstają naturalnie lub w wyniku działalności człowieka w przebiegu procesów pirolizy lub niecałkowitego spalania substancji organicznych m.in. drewna, węgla, ropy naftowej i jej produktów oraz podczas przebiegu procesów petrochemicznych, przetwarzania żywności, palenia tytoniu itp. Związki te są szeroko rozpowszechnione w środowisku, znajdują się w powietrzu, glebie i wodzie. W zależności od warunków mogą być wchłaniane przez drogi oddechowe w postaci aerozoli stałych, przez skórę lub przewód pokarmowy po pobraniu z wodą pitną, żywnością, glebą (zwłaszcza dzieci) i mlekiem matki [1-3, 42].

#### **Właściwości fizykochemiczne**

WWA zbudowane są z trzech lub większej liczby pierścieni aromatycznych. Do WWA można zaliczyć ponad 100 pojedynczych substancji zaliczanych do 5 grup chemicznych, pochodnych antracenu, fenantrenu, chryzenu, pirenu, cholantrenu, reprezentowanych odpowiednio przez 1,2,5,6-dibenzoantracen (dibenzo[a,h]antracen), 3,4-benzoantracen, 5-metylochryzen, 3,4-benzopiren (benzo[a]piren) i 3-metylocholantrren [1, 3] (Ryc. 1).

W czystej postaci WWA są substancjami stałymi, bezbarwnymi, białymi lub bladożółto-zielonymi. WWA na ogół nie występują w środowisku w postaci pojedyn-

czych związków ale w mieszaninach i mogą długo zalegać w środowisku [1]. WWA są chemicznie obojętne i mają właściwości hydrofobowe [32]. Proces formowania WWA ma charakter rodnikowy. Związki te powstają w wyniku addycji benzenu do większych cząsteczek istniejących WWA lub addycji atomów węgla do rodników WWA oraz reakcji pomiędzy rodnikami WWA polegających na addycji i rekombinacjach [34, 43]. W powietrzu atmosferycznym WWA występują w postaci lotnych cząstek stałych (m.in. sadzy) powstających w procesach spalania [34].

Obecność WWA można stwierdzić w żywności, zwłaszcza poddawanej procesom termicznego utrwalania z wykorzystaniem m.in. dymów lub preparatów wędzarniczych [29], a także poddawanej obróbce na otwartym ogniu. Nawet jeśli mięso nie styka się bezpośrednio z płomieniami piroliza tłuszczu w mięsie prowadzi do powstawania WWA [32]. Zabiegi termiczne, którym poddawana jest żywność zawierająca kwasy tłuszczowe, cholesterol,  $\beta$ -karoten, węglowodany i aminokwasy w temperaturach od 350°C do 700°C mogą generować powstawanie WWA [40]. Ponadto źródłem WWA pobieranych wraz z pokarmem mogą być napoje sporządzane z surowców poddawanych obróbce termicznej m.in. kawa naturalna i zbożowa [46]. Za główne źródło WWA pobieranych do organizmu wraz z pokarmem uważane są surowce roślinne. Związane jest to z zanieczyszczeniem gleby, wody, a zwłaszcza powietrza atmosferycznego przez WWA. Istnieje również możliwość endogennej syntezy WWA przez rośliny [32]. Usuwanie WWA ze środowiska zachodzi na drodze biodegradacji w glebie i wodzie oraz degradacji fizykochemicznej w wyniku reakcji katalizowanych przez promienie słoneczne (UV) [2, 24, 48].

### **Drogi wchłaniania, rozmieszczenie w organizmie, biotransformacja**

WWA szybko i łatwo wnikają do organizmu, a szybkość wnikania wzrasta w obecności mieszanin oleistych. Przechodzą do wszystkich tkanek organizmu zawierających tłuszcz i wykazują zdolność kumulowania się głównie w tkance tłuszczowej, a w mniejszym stopniu w wątrobie i nerkach, w nadnerczach, jajnikach i śledzionie. WWA szybko ulegają przemianom metabolicznym na drodze utleniania przez mikrosomalny układ enzymatyczny zwany monoooksygenazami o mieszanej funkcji, a powstające metabolity o charakterze fenolu są sprzęgane z glukuronianem oraz siarczanem, i w postaci rozpuszczalnych w wodzie związków wydalane są z organizmu głównie z moczem [1, 3] (Ryc. 2).

W procesie mikrosomalnej oksydacji WWA ulegają aktywacji metabolicznej, w wyniku której powstają reaktywne metabolity łączące się z makrocząsteczkami komórkowymi (DNA, białka, lipidy) lub generowane są wysoce toksyczne, reaktywne formy tlenu. Wiązanie się pośrednich metabolitów WWA z DNA i powstawanie adduktów DNA-WWA może mieć charakter uszkodzeń promutagennych, które po nieprawidłowym przebiegu procesów naprawczych lub błędnej replikacji ulegają przekształceniu do trwałych zmian o charakterze mutacji, które mogą stać się przyczyną inicjacji i progresji procesu nowotworowego. Proces transformacji nowotworowej może m.in. zachodzić poprzez aktywację protoonkogenów lub inaktywację genów supresorowych [5, 16, 22, 36, 37]. Zaobserwowano, że większą aktywność mutagenną i kancerogenną wykazują WWA zawierające jeden lub więcej pierścieni benzenu połączonych z cząsteczką fenantrenu [33].

Na ogół uważa się, że potencjał kancerogenny WWA związany jest z powstawaniem końcowych genotoksycznych metabolitów podczas ich biotransformacji [21]. WWA są zaliczane do związków dioksynopodobnych. Wiążą się z receptorem Ah i indukują cytochromy P-450. Indukcji rodziny *CYP 1A1/2* towarzyszy wzrost szybkości transkrypcji genów *CYP 1A1* i *CYP 1A2*. Ekspresja tych genów jest pod kontrolą *locus* genetycznego oznaczanego symbolem Ah (aryl hydrocarbon). Produktem genu Ah jest wyżej wspomniane białko receptorowe – receptor Ah. Indukcji cytochromów P-450 towarzyszy indukcja monoooksygenaz, w tym zależnej od *CYP 1A1* hydroksylazy arylovej (AHH) (np. hydroksylazy benzo[a]pirenu). Enzym ten stanowi monoooksygenazę odpowiedzialną za aktywację WWA [11, 33]. Proces biotransformacji WWA można podzielić na kilka faz; pierwsza faza jest to transformacja metaboliczna katalizowana przez układ monoooksygenaz zależnych od *CYP1A1*, które katalizują powstawanie różnych tlenków arenowych. Powstające tlenki arenowe pod wpływem hydrolazy epoksydowej ulegają hydrolizie do odpowiednich dioli. Niektóre fenole, takie jak 6-hydroksybenzo[a]piren są utleniane spontanicznie lub enzymatycznie do odpowiednich chinonów. Inne fenole np. 9-hydroksybenzo[a]piren ulegają dalszej epoksydacji, a następnie hydrolizie do odpowiednich fenoldihydrodioli. Dihydrodirole ulegają dalszemu utlenianiu na dwa różne sposoby np. 9,10-dihydrodiol benzo[a]pirenu jest przekształcany prawie całkowicie do odpowiednich fenoldihydrodioli, podczas gdy epoksydihydrodiol jest zwykle formowany z 7,8-dihydrodiolu. Epoksydihydrodirole mogą spontanicznie hydrolizować do tetraoli. W drugiej fazie reakcji fenole, fenoldihydrodirole, chinony i dihydrodirole ulegają koniugacji do siarczanów albo glukuronidów. Tlenki arenowe, chinony, i epoksydirole reagują z glutationem. Tak więc, w przebiegu procesu biotransformacji WWA dochodzi do tworzenia wysoce reaktywnych związków pośrednich (np. epoksydihydrodirole zwłaszcza (+)-anty-izomer), które mogą wchodzić w reakcje z makrocząsteczkami komórek, w tym z DNA [3, 21]. W przemianach metabolicznych WWA biorą również udział syntaza H prostaglandynowa (PHS) i lipooksygenazy (LPOs) prowadząc do powstania wysoce reaktywnych wolnych rodników tlenowych [13]. Jak już wspomniano procesom biotransformacji WWA może towarzyszyć generowanie wysoce reaktywnych produktów, WWA m.in. benzo[a]piren w obecności wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, takich jak kwas linolenowy i arachidonowy ulegają przemianom oksydacyjnym, a powstałe utlenione produkty WWA i peroksydacji lipidów wykazują potencjał mutagenny. Tak więc produkty utleniania WWA i peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych mogą brać udział w procesach mutagenezy, a także mogą indukować proces nowotworzenia [27].

### **Działanie cytotoksyczne i immunotoksyczne**

Uważa się, że WWA inicjują powstawanie reaktywnych form tlenu (ROS) np. anionu nadtlenkowego i nadtlenku wodoru, które mogą reagować do form wysoce toksycznych takich, jak rodniki hydroksylowe [44, 47]. Reaktywne formy tlenu mogą powstawać w przebiegu przemian metabolitów WWA jakimi są chinony. Produkty utleniania WWA indukujące peroksydację lipidów mogą zaburzać stabilność błon i organelli komórkowych, i prowadzić do uszkodzenia ich struktury. Peroksydacja lipidów jest źródłem toksycznych produktów rozpadu lipidów (np. alkany, alkeny, aldehydy m.in. malonaldehyd, alkohole), które nieodwracalnie mogą uszkadzać ważne komórkowe

makrocząsteczki w tym DNA oraz działać cytotoksycznie. [44]. Zaburzają funkcje tioloprotein, oraz innych strukturalnych i funkcjonalnych protein m.in. enzymów [47]. Powodują uszkodzenia prowadzące do nieprawidłowości ich struktury, obejmujące zmiany składu aminokwasów, zmiany w budowie drugo-, trzecio- i czwartorzędowej protein. Może to powodować zmiany w funkcjach oraz w przebiegu procesów ich degradacji. Wszystkie te zmiany (m.in. oksydacyjne) w DNA mogą zaburzać procesy transkrypcji, translacji i replikacji oraz powodować wzrost ilości mutacji co w końcowym efekcie może powodować śmierć komórek [44]. Cytotoksyczne działanie mieszaniny WWA badano na myszach, obserwowano martwicę komórek kanalików nerkowych, uszkodzenia kłębuszków nerkowych, ogniskową martwicę hepatocytów oraz obniżenie masy śledziony i zaburzenia w strukturze komórkowej grasicy [19]. Indukowana przez WWA cytotoksyczność w stosunku do mysich komórek szpikowych może być przypuszczalnie zniesiona przez podanie 3'-metoksy-4'-nitroflawonu antagonisty receptora Ah i inhibitora aktywności cytochromu P-450 [11]. WWA mogą również wywierać działanie immunotoksyczne. Już w okresie życia płodowego może dochodzić do zaburzeń ekspresji powierzchniowych markerów komórkowych, a także do zaburzeń w prawidłowym przebiegu procesów dojrzewania komórek immunokompetentnych (tymocyty CD4+CD8+) pod wpływem WWA. To z kolei znajduje odzwierciedlenie w okresie rozwoju osobniczego w postaci supresji komórkowych i humoralnych mechanizmów odpowiedzi immunologicznej [18]. Ekspozycja na WWA wywołuje zmiany w narządach układu odpornościowego, co wydaje się znacząco wpływać na jego funkcje. Zmiany takie pojawiają się w szpiku kostnym, grasicy, śledzionie i węzłach chłonnych. W zależności od warunków narażenia obserwowano spadki masy śledziony, węzłów chłonnych, zaś histologicznie atrofię kory grasicy. U zwierząt doświadczalnych odnotowano redukcję całkowitej liczby limfocytów B w śledzionie, spadek ogólnej liczby limfocytów i granulocytów kwasochłonnych. Po ekspozycji na WWA w surowicy można stwierdzić spadek poziomów immunoglobulin klas IgM i IgA, a także znaczący spadek aktywności komórek NK (Natural Killer) w śledzionie [10]. Poza wspomnianymi wyżej zaburzeniami w funkcjonowaniu narządów i komórek układu odpornościowego, występują także nieprawidłowości w syntezie cytokin przez komórki śledziony, takich jak interferon gamma, czynnik martwicy nowotworów (TNF) i upośledzenie biosyntezy limfokin [23]. Uważa się, że WWA mogą zaburzać funkcjonowanie komórek układu odpornościowego przez blokowanie przekaźnictwa sygnałów w komórkach limfoidalnych i zmiany aktywacji limfocytów poprzez mechanizm zależny od jonów  $Ca^{2+}$  [7]. WWA powodują wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia  $Ca^{2+}$  w limfocytach co wydaje się być powiązane z aktywnością immunotoksyczną. Szybki wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia jonów  $Ca^{2+}$  w limfocytach T jest powodowany przez aktywację proteinowej kinazy tyrozynowej (PTK) w tych komórkach, co prowadzi do aktywacji fosfolipazy C (PLC gamma) i mobilizacji jonów  $Ca^{2+}$  zależnych od inozytolotrójfosforanu ( $IP_3$ ) [8, 41]. Wskazuje się na to, że WWA wywierają swoje efekty immunotoksyczne po przekształceniu do reaktywnych pośrednich metabolitów np. chinonów, które mogą powodować alkilację protein komórkowych lub DNA, albo zdolne są do indukcji reaktywnych form tlenu (ROS) (np.  $H_2O_2$ , HO), te natomiast wywołują uszkodzenia oksydacyjne makrocząsteczek komórkowych (lipidy, proteiny, DNA), co więcej ROS mogą aktywować proteinową kinazę C [5], a ta powodować może wcześniej wspomnia-

ne zaburzenia w homeostazie jonów  $\text{Ca}^{2+}$ . Spostrzeżenie, że efekty immunotoksyczne WWA wywoływane są przez metabolity sugeruje, że znaczącą rolę odgrywają ich przemiany metaboliczne indukowane przez enzymy mikrosomalne [28]. Epoksydowe metabolity mogą być również odpowiedzialne za uszkodzenia tioli, co może prowadzić do przemijającej utraty glutationu (GSH) i wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia jonów  $\text{Ca}^{2+}$  [9, 35]. Powstające wskutek działania WWA zmiany w homeostazie  $\text{Ca}^{2+}$ , pełniących także rolę wtórnych przekazników i odgrywających bardzo ważną rolę w komórkowych mechanizmach regulacyjnych mogą być związane z procesami mitogenezy w komórkach, które z kolei mogą odgrywać rolę w procesach inicjacji i progresji zmian nowotworowych powodowanych przez WWA.

### Działanie genotoksyczne i rakotwórcze

Pośrednie reaktywne metabolity WWA powodują powstawanie adduktów DNA-WWA, które mogą mieć charakter zmian promutagennych, jednakże po nieprawidłowym przebiegu procesów naprawy DNA lub braku wiernej replikacji DNA zmiany te mogą być utrwalone w postaci mutacji [36]. W badaniach na szczurach, myszach jak również u człowieka stwierdzono, że WWA są zdolne do indukowania mutacji w obrębie genu supresorowego p53 powodując jego unieczynnienie. Gen ten pełni bardzo ważną rolę regulacyjną obejmującą kontrolę prawidłowego przebiegu cyklu komórkowego i stałości struktury chromosomalnego DNA. W wyniku uszkodzenia (np. mutacji) genu kodującego białka p53 nie dochodzi do eliminacji komórek z uszkodzeniami DNA i uszkodzenie materiału genetycznego zostaje przekazane komórce potomnej w postaci mutacji [20, 30]. Stwierdzono, że WWA powodują w obrębie genu p53 powstawanie adduktów w pozycjach guaniny i indukcję transwersji, głównie  $\text{G} \rightarrow \text{T}$ . WWA po metabolicznym przekształceniu do metabolitów tworzą również addukty DNA na pozycjach adeniny i indukują transwersje  $\text{G} \rightarrow \text{T}$ ,  $\text{A} \rightarrow \text{T}$  oraz tranzycje  $\text{A} \rightarrow \text{G}$ . Stwierdzono, że w genie p53 guzów nowotworowych płuc palaczy tytoniu w większej niż zwykle częstotliwości występują transwersje  $\text{G} \rightarrow \text{T}$  powodowane przez mutageny jakimi są WWA. Powstające addukty mogą przypuszczalnie spowalniać kinetykę komórkowych procesów naprawczych [20, 31]. U pracowników zawodowo narażonych na WWA oraz u palaczy tytoniu stwierdzono wzrost podatności na tworzenie adduktów DNA-WWA i indukcja nowotworzenia w tkance płucnej mogą być związane z genetycznym polimorfizmem genu p53 i polimorfizmem enzymów metabolicznych takich, jak enzymy cytochromu P-450 (CYP1A1), transferazy glutationowej (GSTM1, GSTP1) [50]. U zwierząt doświadczalnych narażonych na WWA w zależności od rodzaju narażenia stwierdzono powstawanie zmian nowotworowych w tkance płucnej, gruczole mlekowym, chłoniaków, nowotworów skóry, wątroby, brodawczaków, którym towarzyszyły mutacje w obrębie rodziny genów *ras*. Powodowane przez WWA zmiany w protoonkogenach *H-ras* i *K-ras* mają charakter mutacji punktowych (tranzycje, transwersje) [30]. Rodzina genów *ras* (protoonkogenów) jest jedną z najczęściej aktywowanych w przypadku uszkodzeń pre- i neoplastycznych u ludzi i zwierząt doświadczalnych. Istnieje pogląd, że aktywowane geny *ras* odgrywają rolę w zaburzeniach proliferacji komórkowej i w procesie różnicowania komórek, co może przejawiać się promocją zmian nowotworowych [26, 36].

**Wpływ na procesy rozrodcze (teratogeneza, zaburzenia spermatogenezy)**

Poza działaniem mutagennym i kancerogennym WWA ważnym aspektem jest również ich działanie teratogenne. W badaniach na zarodkach kurzych narażonych eksperymentalnie na mieszaninę WWA zaobserwowano nieprawidłowości w budowie serca i defekty rozwojowe powłok brzusznych [4], ponadto u szczurów przy ekspozycji na te związki występuje znaczący wzrost resorpcji płodów oraz wzrost liczby płodów o niskiej masie ciała [6]. WWA swoją aktywność embriotoksyczną i teratogenną wykazują po metabolicznej aktywacji, gdyż jako substancje macierzyste są relatywnie nietoksyczne i dlatego określane są mianem proteratogenów [44, 47]. Bioaktywacja WWA odbywa się przy udziale embrionalnych cytochromów P-450, lipooksygenaz (LPOs) i syntazy H prostaglandynowej. Powstające toksyczne elektrofile, pośrednie wolne rodniki i reaktywne formy tlenu mogą nieodwracalnie uszkadzać makrocząsteczki komórek embrionów (DNA, białka, lipidy) [25, 44, 45]. (Ryc. 3) Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne mogą przejawiać swoje niekorzystne działanie także na funkcjonowanie samczych gonad, zwłaszcza na procesy nasieniowtórce. W badaniach na szczurach zaobserwowano, że dochodzi do tego poprzez wiązanie się metabolitów WWA z białkami w strukturach kanalików nasiennych jąder i zaburzeń w syntezie DNA w komórkach spermatogenicznych. WWA w formie niezmienionych związków macierzystych aby wykazać swój niekorzystny wpływ wymagają metabolicznej aktywacji prowadzącej do powstania reaktywnych metabolitów. Pierwszy etap procesu aktywacji odbywa się poprzez ich biotransformację zależną od cytochromu P-450 w komórkach *Leydiga*, następnie powstałe metabolity podlegają dalszym przemianom w strukturach nabłonka kanalików nasiennych poprzez peroksydację do form reaktywnych metabolitów. Powstałe produkty przemian metabolicznych WWA (dielepksydy, rodniki) mogą zaburzać prawidłowy przebieg replikacji DNA oraz funkcjonowanie spermatogonii i spermatocytów [14, 15]. Wydaje się, że podobne przemiany WWA zachodzą również w gonadach u ludzi. Uszkodzenia będące konsekwencją pobierania substancji z grupy WWA z zanieczyszczonego środowiska m.in. benzo(a)pirenu z dymem papierosowym mogą prowadzić do zmian, które przejawiają się nieprawidłowościami chromosomalnymi powstającymi na skutek zaburzeń w procesie podziałów komórkowych. Dotychczasowe badania wykazały zwiększone ryzyko uszkodzeń komórek rozrodczych u mężczyzn niż u kobiet w związku ze znacznie większą liczbą podziałów mitotycznych podczas gametogenezy. Co więcej męskie komórki: spermatydy i plemniki są bardziej wrażliwe na działanie mutagenów chemicznych w okresie postmeiotycznym, a dojrzałe plemniki praktycznie nie posiadają zdolność do naprawy powstałych uszkodzeń DNA. WWA obecne w środowisku i dymie papierosowym mogą powodować spadek jakości (obniżenie ruchliwości, większa liczba form nieprawidłowych) i ilości produkowanego nasienia, a także jego zdolności do penetracji i zapłodnienia komórki jajowej. W żeńskich komórkach rozrodczych, oocytach stwierdzano wzrost częstości występowania anomalii polegających na diploidalności chromosomów, zamiast 23 chromosomów występowało 46. W związku z powyższym istnieje realne niebezpieczeństwo, że genotoksyczne działanie chemicznych mutagenów w tym WWA polegające na uszkodzeniach DNA jeśli nie zostaną skorygowane przez odpowiednie mechanizmy naprawcze mogą prowadzić do mutacji, które przekazywane potomstwu mogą przejawiać się w

postaci efektów opóźnionych np. urodzeń z defektami i nowotworów okresu dziecięcego [49].

### Fotoindukcja WWA

Toksyczne efekty wywoływane przez wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne mogą ulegać intensyfikacji poprzez zjawisko fotoindukcji. Badania na organizmach wodnych wskazują, że WWA posiadają większy potencjał toksyczny w warunkach poddania eksponowanego na WWA organizmu działaniu symulowanego promieniowania słonecznego, a wzrost toksyczności może być nawet 100-krotny [39]. WWA pod wpływem działania promieni nadfioletowych mogą adsorbować przenoszoną przez nie energię i ulegać wzbudzeniu. Wzbudzone cząsteczki WWA mogą przekazywać zgromadzoną energię na cząsteczkowy tlen i indukować procesy prowadzące do powstawania reaktywnych form tlenu zdolnych do wchodzenia w reakcje z makrocząsteczkami komórkowymi i wywoływania poważnych uszkodzeń o charakterze oksydacyjnym. Fototoksyczność WWA może mieć również wpływ na tworzenie kowalentnych adduktów z DNA i/lub innych uszkodzeń nici DNA [12, 17, 38].

### Podsumowanie

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne ze względu na swoje rozpowszechnienie w środowisku i szerokie spektrum działania na organizm stanowią realne zagrożenie zdrowotne. W skali globalnej wydaje się niemożliwym ograniczenie emisji WWA do otoczenia człowieka ze względu na ogromne zapotrzebowanie na energię, która w głównej mierze pozyskiwana jest ze spalania organicznych paliw kopalnych. Indywidualną ekspozycję na WWA i ryzyko związane z efektami ich oddziaływania na organizm można jednak ograniczyć przede wszystkim poprzez zmianę nawyków dietetycznych oraz rezygnację z palenia tytoniu.

A. Zasadowski, A. Wysocki

### SOME TOXICOLOGICAL ASPECTS OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHs) EFFECTS

#### Summary

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are ubiquitous environmental contaminants. They are found through environment in the air, in the soil, in water, in plants, and also in food. PAHs are formed during pyrolysis and the incomplete combustion of organic materials. PAHs can be man-made or occur naturally. They undergo metabolic activation after entering the mammalian cells to highly toxic reactive metabolite intermediates and can irreversibly damage cellular macromolecules (DNA, proteins, lipids). Polycyclic aromatic hydrocarbons represent a class of toxicological compounds which can create a variety of hazardous effects *in vivo*, including cytotoxicity, genotoxicity, immunotoxicity, teratogenicity and carcinogenesis described in present paper.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) Public Health Statement. Polycyclic aromatic hydrocarbons. Atlanta 1990.

2. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR); GA: U.S Department of Health and Human Services, Public Health Service: Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. Atlanta 1995.
3. Angerer J., Mannschreck C., Gundel J.: Biological monitoring and biochemical effect monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 1997, 70, 365–377.
4. Van Shooten F.J., Moonen E.J.C., Van der Wal L., Levels P., Kleinjans J.C.S.: Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) and Their Metabolites in Blood, Feces and Urine of Rats Orally Exposed to PAH Contaminated Soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1997, 33, 317–322.
5. Bolton J.L., Trusch M.A., Penning T.M., Dryhurst G., Monks J.J.: Role of quinines in toxicology. *Chem. Res. Toxicol.* 2000, 13, 135–160.
6. Cervello I., Lafuente A., Giralt M., Mallol I.: Enhanced glutathione S- transferase (GST) activity in pregnant rats treated with benzo[a]pyrene. *Placenta.* 1992, 13, 273–280.
7. Davila D.R., Davis D.P., Campbell K., Cambier J.C., Zigmond L.A., Burchiel S.W.: role of alterations in Ca(2+) associated signaling pathways in the immunotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1995, 45, 101–126.
8. Davila D.R., Lane J.L., Lauer F.T., Burchiel S.W.: Protein tyrosine kinase activation by polycyclic aromatic hydrocarbons in human HPB-All T cells. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1999, 26;56(4), 249–261.
9. Davila D.R., Romero D.L., Burchiel S.W.: Human T cells are highly sensitive to suppression of mitogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons and this effect is differentially reversed by alpha-naphthoflavone. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1996, 139, 333–341.
10. De Jong W.H., Kroese E.D., Vos J.G., Van Loveren H.: Detection of immunotoxicity of benzo[a]pyrene in subacute toxicity study after oral exposure in rats. *Toxicol. Science.* 1999, 50, 214–220.
11. Dertinger S.D., Nazarenko D.A., Silverstone A.E., Gasiewicz T.A.: Aryl hydrocarbon receptor signaling plays a significant role in mediating benzo[a]pyrene-and cigarette smoke condensate-induced cytogenetic damage *in vivo*. *Carcinogenesis* 2000, 22, 171–177.
12. Dong S., Hvang H-M., Harrison C., Holloway L., Shi X., Yu H.: UVA Light-Induced DNA Cleavage by Selected Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2000, 64, 467–474.
13. Fantel A.: Reactive oxygen species in development toxicity; Review and hypothesis. *Teratology* 1996, 53, 196–217.
14. Georgellis A., Parvinen M., Rydstrom I.: Inhibition of stage-specific DNA in rat spermatogenic cells by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chem. Biol. Interact.* 1989, 72, 79–92.
15. Georgellis A., Rydstrom I.: Cell-specific metabolic activation of 7,12-dimethylbenzo[a]anthracene in rats testis. *Chem. Biol. Interact.* 1989, 72, 65–78.
16. Hanelt S., Helbig R., Hartmann A., Lang M., Seidel A., Speit G.: A comparative investigation of DNA adducts, DNA strand breaks and gene mutations induced by benzo[a]pyrene and ( $\pm$ )-anti-benzo[a]pyrene-7,8-dio-19,10-oxide in cultured human cells. *Mutat. Res.* 1997, 390, 179–188.
17. Hoard D.E., Ratliff R.L., Bingham I.M., Striste G.F.: Reaction induced *in vitro* between model DNA and benzo[a]pyrene by ultraviolet radiation. *Chem. Biol. Interact.* 1981, 33, 179–194.
18. Holladay S.D., Smith B.J.: Fetal hematopoietic alterations after maternal exposure to benzo[a]pyrene: cytometric evaluation. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1994, 42(3), 259–273.
19. Izdebska-Szymona K., Kopeć-Szlezak J., Kozłowska E., Drela N., Pańczyk S.: Cytotoksyczność narządowa wybranych policyklicznych węglowodorów aromatycznych (WWA) u myszy. *Roczn. PZH* 1997, 48, Nr 1, 13–21.



20. Khalili H., Zhang F.-J., Harvey R.G., Dipple A.: Mutagenicity of benzo[a]pyrene-deoxyadenosine adducts in a sequence context derived from the p53 gene. *Mutat. Res.* 2000, 465, 39–44.
21. Klopman G., Tu M., Fan B.T.: Prediction of the metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Theor. Chem. Acc.* 1999, 102, 33–38.
22. Kozack R., Seo K.-Y., Jelinsky S.A., Loechler E.L.: Toward an understanding of the role of DNA adduct conformation in defining mutagenic mechanism based on studies of the major adduct (formed at N<sup>2</sup>-dG) of the potent environmental carcinogen, benzo[a]pyrene. *Mutat. Res.* 2000, 450, 41–59.
23. Kozłowska E., Krzystyniak K., Drela N., Grabarczyk P., Izdebska-Szymona K.: Thymus-directed immunotoxicity of airborne dust particles from Upper Silesia (Poland) under acute extrapulmonary studies in mice. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1996, 27;49(6), 563–579.
24. Lipniak M., Zastępa P., Gawlik M.: Zawartość wybranych WWA i metali w glebach Krakowa. *Roczn. PZH* 1994, 45, 97–106.
25. Marnett L.I., Reed G.A., Dennison D.I.: Prostaglandin synthase dependent activation of 7,8-dihydro-7,8-dihydroxy-benzo[a]pyrene to mutagenic derivatives. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1978, 82, 210–216.
26. Maronpot R.R., Fox T., Malarkey D.E., Goldsworthy T.L.: Mutations in the ras proto-oncogene: clues to etiology and molecular pathogenesis of mouse liver tumors. *Toxicology* 1995, 101, 125–156.
27. Mc Neill J.M., Wills E.D.: The formation of mutagenic derivatives of benzo[a]pyrene by peroxidising fatty acids. *Chem. Biol. Interact.* 1985, 53, 197–207.
28. Mounho B.J., Davila D.R., Burchiel S.W.: Characterization of intracellular calcium response produced by polycyclic aromatic hydrocarbons in surface marker-defined human peripheral blood mononuclear cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997, 145, 323–330.
29. Obiedziński M.W.: Reasumpcja badań nad występowaniem wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych w wybranych artykułach spożywczych w Polsce. Konferencja Naukowa „Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w elementach środowiska”, Olsztyn, 1994, 22.
30. Palut D., Kostka G., Adamczyk M.: Molekularne mechanizmy chemicznej kancerogenezy. *Roczn. PZH* 1998, 49, 35–54.
31. Pfeifer G.P., Holmquist G.P.: Mutagenesis in the p53 gene. *Biochim. Biophys. Acta* 1997, 1333, M1-M8.
32. Philips D.H.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutat. Res.* 1999, 443, 139–147.
33. Piskorska-Pliszczyńska J.: Funkcja receptora Ah w mechanizmie działania dioksyn i związków pokrewnych. *PIWet*, Puławy 1998.
34. Richter H., Howard J.B.: Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons and their growth to soot – a review of chemical reaction pathways. *Progress in Energy and Combustion Science.* 2000, 26, 565–608.
35. Romero D.L., Mounho B.J., Lauer F.T., Born J.L., Burchiel S.W.: Depletion of glutathione by benzo[a]pyrene metabolites, anomycin, thapsigargin, and phorbol myristate in human peripheral blood mononuclear cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997, 144, 62–69.
36. Ross J.A., Nesnow S.: Polycyclic aromatic hydrocarbons: correlations between DNA adducts and ras oncogene mutations. *Mutat. Res.* 1999, 424, 155–166.
37. Seo K.-Y., Jelinsky S.A., Loechler E.L.: Factor that influence the mutagenic patterns of DNA adducts from chemical carcinogenesis. *Mutat. Res.* 2000, 463, 215–246.
38. Striste G.F., Martinez E., Martinez A.M., Brake R.I.: Photo-induced reactions of benzo[a]pyrene with DNA *in vitro*. *Cancer Res.* 1980, 40, 245–252.
39. Swartz R.C., Ferraro S.P., Lamberson I.O., Cole F.A., Ozreith R.I., Boese B.L., Shults D.W., Behrenfeld M., Ankley G.T.: Photoactivation and toxicity of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in marine sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* 1997, 16, 2151–2157.

40. *Szteke B., Jędrzejczak R.*: Problem zanieczyszczenia żywności benzo[a]pirenem w procesach termicznych. Konferencja Naukowa „Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w elementach środowiska”, Olsztyn 1994, 28.
41. *Tannheimer S.L., Barton S.L., ethier S.P., Burchiel S.W.*: Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons increase intracellular  $Ca^{2+}$  and cell proliferation in primary human mammary epithelial cells. *Carcinogenesis*. 1997, 18, 1177–1182.
42. *Van Shooten F.I., Moonen E.I.C., Van der Wal L., Levels P., Kleinjans I.C.S.*: Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) and Their Metabolites in Blood, Feces and Urine of Rats Orally Exposed to PAH Contaminated Soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1997, 33, 317–322.
43. *Violi A., D’Anna A., D’Alesio A.*: Modeling of particulate formation in combustion and pyrolysis. *Chem. Engin. Science*. 1999, 54, 3433–3442.
44. *Wells P.G., Kim P.M., Laposa R.R., Nicol Ch. J., Parman T., Winn L.M.*: Oxidative damage in chemical teratogenesis. *Mutat. Res*. 1997, 396, 65- 78.
45. *Wells P.G., Winn L.M.*: Biochemical toxicology of chemical teratogenesis. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1996, 31, 1–40.
46. *Wieczorek J., Smoczyński S.S.*: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w próbkach wody pitnej oraz w naparach z kawy naturalnej i zbożowej. Konferencja Naukowa „Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w elementach środowiska”, Olsztyn 1994, 30.
47. *Winn C.M., Wells P.G.*: Evidence for embryonic prostaglandin H synthase-catalyzed bioactivation and reactive oxygen species-mediated oxidation of cellular macromolecules in phenytoin and benzo[a]pyrene teratogenesis. *Free Radic. Biol. Med.* 1997, 22, 607–621.
48. *Yuan S.Y., Wei S.H., Chang B.V.*: Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a mixed culture. *Chemosphere*. 2000, 41, 1463–1468.
49. *Zenzes M.T., Bielecki R., Reed E.*: Detection of benzo[a]pyrene diol epoxide DNA adducts in sperm of men exposed to cigarette smoke. *Fertil. Steril.* 1999, 72, 330–335.
50. *Zhang I., Ichiba M., Feng Y., Pan G., Hanaoka T., Yamano Y., Hara K., Takahashi K., Tomokuni K.*: Aromatic DNA adducts in coke-oven workers, in relation to exposure, lifestyle and genetic polymorphism of metabolic enzymes. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 2000, 73, 127–135.

Otrzymano: 2001.05.11