

**MEHANIZMI TOKSIČNOG DEJSTVA I INTERAKCIJE  
POLIHLOROVANIH BIFENILA I POLIBROMOVANIH  
DIFENIL ETARA\***

***TOXICITY MECHANISMS AND INTERACTIONS OF  
POLYCHLORINATED BIPHENYLS AND POLYBROMINATED  
DIPHENYLETHERS***

**Biljana Antonijević, Vesna Milovanović, Marijana Ćurčić, S. Janković,  
Vesna Jačević, Slavica Vučinić\*\***

*Polihlorovani bifenili (PCBs) i bromovani usporivači gorenja, polibromovani difenil etri (PBDEs) su široko rasprostranjeni u životnoj sredini kao posledica antropogenih aktivnosti i zahvaljujući njihovoj postojanosti i otpornosti na degradaciju. Obe grupe jedinjenja se nalaze na listi perzistentnih organskih zagađivača (POPs) usvojenoj Stokholmskom konvencijom sa ciljem da zabrani ili ograniči proizvodnju, upotrebu, emisiju ili uvoz i izvoz toksičnih supstanci označenih kao POPs u svrhu zaštite zdravlja ljudi i životne sredine. Uzimajući u obzir strukturnu sličnost između PBDEs i PCBs, kao i činjenicu da je istovremena ekspozicija ovim jedinjenjima realna, ispitivanja njihovih interakcija su od značaja za predviđanje rezultujućeg efekta. Saznanja u oblasti toksikologije smeša, takođe doprinose procesu evaluacije i karakterizacije rizika. Interakcije jedinjenja iz ovih grupa su verovatne na nivou endokrinog sistema, naročito tiroidnog i reproduktivnog. S obzirom na mehanizme toksičnosti obe grupe supstanci za nervni sistem, uključujući funkcionalne promene, neurološke poremećaje i promene u ponašanju, moguće je očekivati njihove interakcije i na sistemima neurotrans-*

\* Rad primljen za štampu 01. 11. 2012. godine

\*\* Dr sc. Biljana Antonijević, vanredni profesor, Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović“, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Beograd, Srbija; Vesna Milovanović, dipl. pharm. – med. bioh., student doktorskih studija, Agencija za hemikalije Republike Srbije, Beograd, Srbija; mr sc. Marijana Ćurčić, asistent, Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović“, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Beograd, Srbija; Saša Janković, dipl. pharm. – med. bioh. istraživač saradnik; Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Srbija; dr sc. Vesna Jačević, viši naučni saradnik; dr sc. Slavica Vučinić, vanredni profesor, Centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija

*mitera, promene u prenosu signala i izazivanje apoptoze, kao i na pojavu metaboličkih poremećaja.*

*Ključne reči: polihlorovani bifenili, polibromovani difenil etri, mehanizmi toksičnosti, interakcije, rizik*

## **Uvod / Introduction**

Jedinjenja iz grupe dugotrajnih organskih zagađivača (POPs) su široko rasprostranjena u životnoj sredini kao posledica antropogenih aktivnosti, postojanosti i otpornosti na hemijsku, fotolitičku i biološku degradaciju. Dve kvantitativno dominantne grupe organo-halogenih zagađivača životne sredine su polihlorovani bifenili (PCBs) i bromovani usporivači gorenja, među kojima najširu primenu danas imaju polibromovani difenil etri (PBDEs). Nasuprot PCBs, čija je proizvodnja zabranjena Stokholmskom konvencijom, pojedini PBDEs se i dalje proizvode za upotrebu kao usporivači gorenja za različite proizvode široke potrošnje kao što su električni i elektronski uređaji, materijali za različite namene (građevinska, auto i avio industrija i sl.). Supstance koje pripadaju ovim grupama zbog svoje lipofilnosti imaju sposobnost bioakumulacije i biomagnifikacije, pa u tkivima ljudi i životinja mogu da dostignu određene merljive koncentracije. Njihova zastupljenost u tkivima dovodi se u vezu sa efektima na zdravlje ljudi i životinja. Iako nivo pojedinačnog jedinjenja ne mora da dovede do pojave štetnog efekta, zbirni efekat ovih jedinjenja može da bude od toksikološkog značaja (Janković i sar., 2010; Ćurčić i sar., 2010).

U ispitivanjima na životinjama efekti PCBs se manifestuju prvenstveno posle hronične ekspozicije njihovim smešama ili pojedinačnim kongenerima. U štetne efekte PCBs spadaju neurotoksičnost, karcinogenost, reproduktivni poremećaji, kao i delovanje na endokrini sistem. Kod eksperimentalnih životinja ekspozicija PCBs dovodi do poremećaja menstrualnog ciklusa i utiče na produkciju i morfologiju spermatozoida. Ovi efekti imaju za posledicu teškoće u začeću, povećanje incidence abortusa i prevremenih porođaja, kao i neplodnost. PCBs mogu uticati na endokrini sistem na više načina – direktno na hormone, na određene enzime, transportne proteine, receptore, endokrine žlezde i regulacione sisteme. Navedeni efekti vode poremećajima razvoja nervnog sistema, reprodukcije i indukovanju hormon-senzitivnih tumora. Najznačajniji endokrini efekti PCBs su poremećaj hormona štitne žlezde i mogućnost izazivanja agonističkog ili antagonističkog estrogenskog odgovora. U zavisnosti od položaja hlora u molekulu kongenera, a naročito u orto položajima, PCBs pokazuju veliku različitost u mehanizmima štetnog dejstva. Kongeneri koji sadrže jedan ili ne sadrže supstituente hlora u orto položaju mogu da zauzmu planarnu konfiguraciju i pokazuju toksičnost sličnu 2,3,7,8-tetrahlorodibenzo-*p*-dioksinu (TCDD). Kongeneri sa manjim brojem atoma hlora u orto položajima smatraju se neplanarnim i imaju različitu toksičnost od planarnih. Većina ispitivanja mehanizama toksičnosti

PCBs je fokusirana na planarne, dioksinu slične kongenere, iako u životnoj sredini dominiraju neplanarni, orto supstituisani PCBs. Pojedini orto supstituisani, neplanarni PCBs kongeneri takođe pokazuju značajnu biološku aktivnost i igraju bitnu ulogu u citotoksičnosti (ATSDR, 2000).

Pojedini bromovani usporivači gorenja strukturno su slični PCBs, pa većina ispitivanja njihove toksičnosti ima komparativni pristup u odnosu na studije toksičnosti PCBs i drugih organohalogenata, kao što su dioksini. Pored toga, njihova toksičnost nije u potpunosti istražena, pa je i broj podataka o toksičnosti PBDEs još uvek relativno mali u odnosu na PCBs. Jedinjenja iz grupe PBDEs takođe se mogu pojaviti u obliku 209 različitih kongenera, od kojih su u životnoj sredini najzastupljeniji PBDE 47, 99, 100, 153 i 154. Na osnovu strukturne sličnosti i efekata koje izazivaju pojedini PCBs i PBDEs mogu se pretpostaviti moguće interakcije jedinjenja iz ovih grupa. U ovom smislu, najviše su ispitivani efekti na endokrini i nervni sistem.

S obzirom na jednovremeno prisustvo PCBs i PBDEs u životnoj sredini, cilj ovog rada bio je da se prikažu mehanizmi toksičnog dejstva i da se ukaže na moguća ciljna mesta njihovih interakcija u organizmu.

#### **Mehanizam toksičnog dejstva preko receptora za aromatične ugljovodonike/ *Mechanism of toxic effects through receptors for aromatic hydrocarbons***

Najveći broj štetnih efekata koplanarnih PCBs je posledica njihovog vezivanja za receptor za aromatične ugljovodonike (AhR). Ovaj receptor je multifunkcionalni protein koji dovodi do promena u ekspresiji gena i prenosu signala, podstičući promene u proliferaciji i diferencijaciji ćelija. Planarni kongeneri PCBs vezuju se sa visokim afinitetom za ovaj receptor, slično afinitetu koji pokazuju polihlorovani dibenzo-*p*-dioksini (PCDDs) i polihlorovani dibenzofurani (PCDFs). Stepem supstitucije u bifenilnom mostu takođe utiče na sposobnost aktivacije AhR. Međutim, pokazano je da jedinjenja vrlo različite strukture mogu biti aktivatori AhR. Takođe se pretpostavlja da postoji nekoliko istovremenih mehanizama aktivacije ovog receptora i da dejstvo najaktivnijih jedinjenja verovatno uključuje više različitih mehanizama. Smatra se da je indukcija aktivnosti enzima P450 zavisna od aktivacije AhR. Kongeneri PCBs koji pokazuju veliki afinitet vezivanja za AhR mogu da budu potentni induktori familije CYP1 (A1, A2, B1), a oni koji imaju orto supstituisanu strukturu indukuju enzime iz familija CYP2 i CYP3 (Safe, 1990; Safe, 1994).

Zbog strukturne sličnosti sa dioksinima, pojedini autori pripisuju polibromovanim difenil etrima ispoljavanje toksičnih efekata preko receptora za aromatične ugljovodonike (Ćurčić i sar., 2010). Ispitivanjem na pacovima pokazano je da PBDE 47 može da bude antagonist receptora za aromatične ugljovodonike (Hamers i sar., 2006). Na hepatocitima majmuna primećena je dozno-zavisna antagonistička aktivnost PBDEs na indukciju CYP1A pri koncentracijama od 0,1 do 10  $\mu$ M (Peters i sar., 2006).

Smatra se i da je receptor za aromatične ugljovodonike uključen u transkripciju zavisnu od estrogena, da kontroliše ciljno-specifičnu nishodnu regulaciju estrogenog receptora i da učestvuje u nekoliko drugih važnih puteva prenosa signala. Pojedini PCBs kongeneri su toksični za endokrini i reproduktivni sistem. Pored bioloških i toksičnih efekata osnovnog jedinjenja, uloga hidroksilovanih i metil-sulfon metabolita PCBs u endokrinim poremećajima je od posebnog toksikološkog interesa. Rezultati ispitivanja na ćelijama karcinoma dojke ukazuju na to da AhR ima važnu ulogu u posredovanju antiestrogenog odgovora. Nuklearni translokator receptora za aromatične ugljovodonike (ARNT) se pominje kao važan faktor u dijabetesu tipa 2. Naime, smanjenje nivoa ARNT dovelo je do značajnog poremećaja oslobađanja insulina nakon stimulacije glukozom, kao i do promena u ekspresiji gena za humane  $\beta$ -ćelije pankreasa. Pretpostavlja se da bi AhR i ARNT mogli da predstavljaju vezu između faktora životne sredine i pojave ove bolesti kod ljudi. Međutim, da bi se okarakterisali efekti koje na zdravlje imaju zagađivači životne sredine koji remete endokrini sistem, potrebna su dalja ispitivanja na ovom polju.

#### **Citotoksičnost polihlorovanih bifenila i polibromovanih difenil etara /** *Cytotoxicity of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenylethers*

Citotoksičnost pojedinih kongenera PCBs potvrđena je *in vitro* ispitivanjima (Antonijević i sar., 2010). Na Vero ćelijskoj liniji orto supstituisani PCB 153 je indukovao veći gubitak vijabiliteta ćelija nego planarni PCB 126. Ovom efektu je prethodilo oštećenje strukture i funkcije mitohondrija, smanjenje potencijala membrane i veličine ćelija, pa se apoptoza smatra važnim mehanizmom ćelijske smrti kod ekspozicije PCB 153 (Shen i sar., 2010). Takođe je pokazano da voluminozni, neplanarni PCB 52 izaziva veći poremećaj funkcije ćelijske membrane nego planarni PCB 77 (Chen i sar., 2010). Mogućim mehanizmom razvoja tumora izazvanog PCBs smatra se inhibicija unutarćelijskog prenosa signala (De Haan i sar., 1994). Kongeneri 52 i 77 su pokazali stimulaciju proliferacije Vero ćelijske linije pri niskim dozama (Chen i sar., 2010). I planarni i neplanarni kongeneri u niskim koncentracijama mogu da indukuju izmene u p53 prenosu signala, a ovi efekti bi mogli da budu povezani sa karcinogenezom u jetri pacova (Al Anati i sar., 2009). Neki autori su predložili mehanizme citotoksičnosti ovih jedinjenja posredovane oksidativnim stresom. Citotoksičnost izazvana planarnim PCBs je posredovana prvenstveno aktivacijom mikrozomalnih monooksigenaza, koje konvertuju PCBs u reaktivne metabolite koji mogu da reaguju sa N- i S-nukleofilima, uključujući aminokiseline, proteine i peptide. Za koplanarni PCB 126 je pokazano da posreduje u apoptozi i remećenju potencijala membrane mitohondrija putem stvaranja reaktivnih kiseoničnih vrsta (Parka i sar., 2010).

Citotoksičnost polibromovanih difenil etara je takođe pokazana u *in vitro* ispitivanjima (Durgo i sar., 2010). PBDE 209 je inhibirao vijabilitet ćelija hepatoma u zavisnosti od vremena i koncentracije. Mehanizmom ove cito-

toksičnosti smatra se izazivanje apoptoze preko stvaranja reaktivnih kiseoničnih vrsta (Hua i sar., 2007). Pokazano je da PBDE 47 može da izazove oksidativni stres, oštećenje DNK i apoptozu u primarnim neuronima hipokampusa pacova. PBDE 47 utiče na porast koncentracije intracelularnog kalcijuma, a poznato je da promene u homeostazi kalcijuma mogu dovesti do apoptoze (He i sar., 2009). Za metabolit 6-OH-PBDE 47 je pokazano da je potentniji u remećenju homeostaze kalcijuma i oslobađanja neurotransmitera nego polazno jedinjenje, PBDE 47 (Dingemans i sar., 2008).

#### **Interakcije polihlorovanih bifenila i polibromovanih difenil etara /** *Interactions of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenylethers*

Pregledom mehanizama dejstva i toksičnih efekata PCBs i PBDEs moguće je otvoriti pitanje mogućih interakcija ove dve grupe jedinjenja. Za PCBs, naročito neplanarne, i za PBDEs se smatra da remete endokrini sistem. Difenilna struktura molekula PCBs, PBDEs i metabolita ovih jedinjenja slična je strukturi tiroidnog hormona i zbog toga oni mogu da deluju preko receptora i/ili transportnog proteina za tiroidne hormone (Cheek, 1999). Tiroidni sistem se pokazao osetljivim na pojedine zagađivače životne sredine naročito tokom ranog rasta i razvoja i kritičan je za razvoj centralnog nervnog sistema. PCBs, naročito metaboliti OH-PCB, vezuju se za proteine koji prenose T4 i mogu da istisnu prirodni hormon iz veze sa transportnim proteinom. Prenos hidroksilovanih PCBs sa majke na fetus olakšan je *in vivo* vezivanjem za transtiretin. Ovaj mehanizam može dovesti do snižavanja nivoa T4 u mozgu fetusa (Meerts i sar., 2002). PCBs indukuju abnormalni razvoj mozga delujući direktno preko sistema tiroidnih hormona i posle akutne i subakutne ekspozicije. U periodu rasta i razvoja, kao i kod odraslih životinja ekspozicija PCBs može dovesti do uvećanja štitne žlezde i smanjenje nivoa ukupnog T4 u serumu (Porterfield, 2000). Pojedini kongeneri PCBs indukuju ekspresiju mikrozomalnih enzima, uridin difosfat glukuronil-transferaze, koji metaboliše T4 do glukuronida, čime se olakšava ekskrecija (Barter i Klaassen, 1994). U ispitivanju efekata PBDEs na endokrini sistem kod miševa pokazano je da je prenatalno izlaganje PBDE 209 uzrokovalo promene na štitnoj žlezdi i u koncentracijama T3 u serumu (Tseng i sar., 2008). Pokazano je da PBDE 47 može da izmeni transport T4 putem transtiretina kod glodara (Richardson i sar., 2008). Pretpostavlja se da se hidroksilovani metaboliti PBDEs nalik hidroksilovanim metabolitima PCBs vezuju za transtiretin (Hallgren i Damerud, 2002) zbog čega jetra u većoj meri preuzima T4, koji se eliminiše putem žuči. PCBs su potentnije supstance od PBDEs, jer PBDEs treba da budu aktivirani do hidroksi metabolita pre nego što kompetitivno inhibiraju vezivanje T4. Smatra se, takođe, da mnogi hidroksilovani PCBs i PBDEs imaju veći afinitet za transportni protein transtiretin nego sam T4 (Kitamura i sar., 2005). Efekti obe grupe jedinjenja na transport i metabolizam hormona štitne žlezde otvaraju pitanje mogućih interakcija ovih jedinjenja pri istovremenoj ekspoziciji.

### **Neurotoksičnost / Neurotoxicity**

U kohortnoj studiji zaključeno je da su koncentracije mono-orto supstituisanih PCBs u serumu majki značajno povezane sa nižim indeksima psihomotornog i mentalnog razvoja dece. Prenatalna ekspozicija ovim PCBs može da utiče na rast i razvoj mozga *in utero*. Neka ispitivanja navode da mono i di orto supstituisani PCBs imaju izraženiji štetni efekat na razvoj nervnog sistema nego planarni. Zbog toga se smatra da je ova toksičnost posredovana mehanizmom koji ne uključuje receptor za aromatične ugljovodonike. Kao mehanizmi funkcionalnih promena nervnog sistema po ekspoziciji PCBs navode se efekti na sisteme neurotransmitera (dopamina, serotonin, glutamata,  $\gamma$ -aminobuterne kiseline (GABA), uključujući njihov transport, i receptore (GABA-A receptor, N-metil-D-aspartatni (NMDA) receptor, muskarinski, nikotinski) (Maurissen i Fonnum, 2006). Osim toga, PCBs remete homeostazu kalcijuma, sisteme hormona i dovode do oksidativnog stresa. Ove efekte prate aktivacija ili inhibicija određenih enzima prenosa signala kao što je protein kinaza C i smanjena vijabilnost ćelija (Royland i sar., 2008). Na pacovima je dokazano da ekspozicija neplanarnim PCBs tokom graviditeta i laktacije uzrokuje dugotrajan poremećaj kognitivne funkcije ili motorne koordinacije kod potomstva. Različiti kongeneri uzrokuju različite poremećaje ponašanja. PCB 52 remeti motornu koordinaciju čemu doprinosi povećanje ekstracelularne  $\gamma$ -aminobuterne kiseline u malom mozgu. S druge strane, PCB 138 i 180 remete sposobnost učenja zbog poremećene funkcije glutamat-NO-cGMP puta u mozgu i smanjenje broja NMDA receptora (Boix i sar., 2010).

Smatra se da je u mehanizme neurotoksičnosti PBDEs uključena apoptoza kao posledica remećenja homeostaze kalcijuma. U ispitivanju na ćelijama malog mozga dokazana je neurotoksičnost smeše polibromovanih difenil etara DE 71 (Reistad i sar., 2006). Na primarnim neuronima hipokampusa pacova je pokazano da PBDE 209 povećava učestalost apoptoze, ekspresiju p38 mitogenom aktivirane proteinske (MAP) kinaze, koncentraciju jona kalcijuma, nivo parametara oksidativnog stresa i snižava nivo ukupne metilacije gena DNK. Navedene promene do kojih dovodi PBDE 209 mogu da doprinesu neurotoksičnosti u periodu rasta i razvoja (Chen i sar., 2010). Takođe je pokazano da PBDE 209 ireverzibilno smanjuje prolazak natrijuma kroz voltažno zavisne kanale pri vrlo niskim koncentracijama. Ovaj efekat bi mogao da bude jedan od mehanizama za pojavu neuroloških simptoma pri intoksikaciji (Xing i sar., 2010). Na humanim ćelijama neuroblastoma dokazana je interakcija PBDE 47 i PBDE 99. PBDE 47, PBDE 99 i PCB 47 dozno-zavisno inhibiraju preuzimanje kalcijuma u mikrozome i mitohondrije pri mikromolskim koncentracijama. Kongeneri PBDE 47 i 99 inhibiraju preuzimanje kalcijuma pri koncentracijama sličnim onima koje su ranije utvrđene za PCBs. Inhibicija mitohondrijalnog preuzimanja jona kalcijuma nije ista u svim regijama mozga, i hipotalamus je u ovom smislu najosetljiviji (Coburn i sar., 2008). Pokazano je da je metabolit 6-OH-BDE 47 potentniji u re-



mećenju homeostaze kalcijuma i oslobađanja neurotransmitera nego polazno jedinjenje PBDE 47. Ovo govori u prilog tome da oksidativni metabolizam može značajno da doprinese neurotoksičnosti PBDEs (Dingemans i sar., 2008).

Još neka ispitivanja govore u prilog interakcijama u odnosu na neurotoksični efekat PCBs i PBDEs. Na ćelijama neuroblastoma potvrđeno je da PBDE 47 može da pojača neurotoksičnost PCB 153. Ova interakcija je sinergistička u opsegu doza koje izazivaju neurotoksičnost (He i sar., 2009). Takođe je pokazano da ova interakcija postoji između PCB 52 i PBDE 99 (Eriksson i sar., 2006). Osim toga, primećen je značajan sinergistički efekat PCB 153 i PBDE 47 na ekspresiju kaspaze 3 i iRNK citohroma C ukazujući na indukciju apoptotičke smrti. Takođe je uočeno da ova dva kongenera, u različitom odnosu koncentracija, učestvuju u indukciji ekspresije drugih proteina uključenih u proces apoptoze (He i sar., 2009).

Predložena ciljna mesta dejstva PCBs, PBDEs i njihovih metabolita u nervnim ćelijama su mitohondrijalna homeostaza kalcijuma, aktivacija rijanodinskih receptora u endoplazmatičnom retikulumu, aktivacija NMDA receptora, smanjen influks kalcijuma i inhibicija izmene natrijuma i kalcijuma (Pessah i sar., 2010). Pored toga, zajednička mesta dejstva su i aktivacija sintetaze azot(II)-oksida, inhibicija transporta dopamina, autooksidacija dopamina praćena stvaranjem reaktivnih kiseoničnih vrsta. PCBs i PBDEs doprinose stvaranju reaktivnih kiseoničnih vrsta, što je najverovatnije posledica poremećaja homeostaze kalcijuma. Osim navedenog, zajedničko mesto dejstva je i aktivacija MAP kinaza. Dodatno, ova jedinjenja deluju preko neuroendokrinih faktora, naročito sistema tiroidnih hormona, što može da utiče na neurološki razvoj, naročito na holinergički sistem (He i sar., 2009). Izmenjena aktivnost holin acetiltransferaze može delom da bude posledica hipotiroidizma udruženog sa ekspozicijom PCBs (Juarez de Ku i sar., 1994). Efekti smeše PCBs i PBDEs su uočeni i na kardiovaskularnom sistemu. Naime, pokazano je da komercijalne smeše PCBs i PBDEs značajno smanjuju oslobađanje vazopresina iz supraoptičkih neurona hipotalamusa pacova (Coburn i sar., 2007). Centralno oslobađanje vazopresina je odgovorno ne samo za endokrinu regulaciju telesnih tečnosti i kardiovaskularnu funkciju, već ima ulogu i u kognitivnim funkcijama kao što su učenje i pamćenje. Dodatno, ekspozicija PBDEs tokom rasta i razvoja dovodi se u vezu i sa pojavom autizma (Messer, 2010).

#### **Mehanizmi dejstva i procena rizika / *Mechanisms of action and risk evaluation***

U proceni rizika za 12 koplanarnih PCBs i druga jedinjenja slična dioksinu primenjuje se metodologija kumulativne procene rizika korišćenjem faktora ekvivalenta toksičnosti (TEF), tako što se upoređuje potentnost pojedinačnih kongenera sa potentnošću 2,3,7,8-tetrahlordibenzo-p-dioksina (TCDD) (Van den Berg, 2006). Metodologija TEF se bazira na osobini kongenera da se vezuju za AhR i aktiviraju aktivnost enzima putem ovog receptora. Faktori ekvivalenta toksičnosti se koriste da se izračuna ekvivalent toksičnosti (TEQ) smeše koji pred-

stavlja zbir svih pojedinačnih TEF kongenera pomnožen sa koncentracijom određenog kongenera u smeši.

Polibromovani difenil etri koji su odnedavno priključeni grupi POPs, i PCBs, naročito neplanarni, imaju slične strukturne karakteristike i zbog toga pojedina ispitivanja toksičnosti PBDEs imaju upravo komparativni pristup. Pojedini PBDEs mogu da aktiviraju AhR, ali imaju manju relativnu potentnost od 2,3,7,8-TCDD (Chen i sar., 2001).

Za PCBs koji nisu slični dioksinu za sada nije predložena jedinstvena metodologija za određivanje i upoređivanje toksičnosti. Orto supstituisani PCBs imaju izražene mehanizme toksičnog dejstva različite od vezivanja za AhR, uključujući efekte na neurološki razvoj, nivo dopamina i promociju tumora. Osim toga, specifičniji efekti višestruko orto supstituisanih PCBs uglavnom su pokazani pri znatno višim dozama od onih koji su uočeni kod agonista AhR. Poznavanje relativne toksičnosti različitih kongenera u odnosu na druge mehanizme dejstva (različitim od aktivacije AhR) bi unapredilo razumevanje toksičnosti PCBs i sličnih jedinjenja, kao što su PBDEs, i omogućilo verodostojniju interpretaciju rizika pri istovremenoj ekspoziciji ovim jedinjenjima. Predložene su i drugačije šeme za izražavanje relativne toksičnosti, npr. NEQ (ekvivalent neurotoksičnosti), i mogući biomarker (smanjenje cirkulišućeg T4) (Yang i sar., 2010) za formiranje nove TEF šeme koja uključuje i orto kongenere. Ovaj novi TEF koncept bi bio koristan za orto supstituisane PCBs u proceni rizika u odnosu na poremećaj endokrine funkcije i neurotoksične efekte PCBs, ali i PBDEs koji deluju sličnim mehanizmima.

Kvantitativna procena toksičnosti neplanarnih kongenera PCBs u smeši (prema efektima različitim od aktivacije AhR) može značajno da poboljša buduću procenu rizika smeša PCBs i sličnih jedinjenja. Kumulativna procena rizika bi mogla da predstavlja metodološku osnovu za procenu interakcija jedinjenja koja pokazuju isti mehanizam štetnog dejstva, kao što su pojedini PCBs i PBDEs.

### **Zaključak / Conclusion**

Ljudi su svakodnevno izloženi smešama potencijalno toksičnih supstanci kao što su PCBs i PBDEs. Ispitivanja pojedinačnih jedinjenja, međutim, često nisu dovoljna da bi se objasnila veza između ekspozicije i toksičnog efekta. Pri izloženosti smešama supstanci potrebno je identifikovati jedinjenja koja su odgovorna za toksične efekte, ispitati verovatnoću nastanka interakcija, njihovu prirodu i intenzitet. S obzirom na strukturnu sličnost PBDEs sa PCBs i njihove pojedinačne efekte moguće je pretpostaviti da su interakcije ovih grupa jedinjenja verovatne na nivou sistema hormona, naročito tiroidnih i reproduktivnih. Kao mehanizmi štetnog dejstva obe grupe supstanci na nervni sistem, uključujući funkcionalne promene, neurološke poremećaje i promene u ponašanju, u stručnoj i naučnoj literaturi se navode uticaji na sisteme neurotransmitera, promene u prenosu signala i izazivanje apoptoze. Ispitivanjem potencijalnih efekata jedinjenja u



smeši uključujući i savremene pristupe modelovanju odnosa doza-odgovor dolazi se do rezultata koji doprinose boljem razumevanju mehanizama i interpretaciji efekata kompleksnih smeša.

**NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:**

Ovaj rad je deo projekta broj III 46009, koji finansira Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije, 2011-2014 /

*This work is part of Project Number III 46009 financed by the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia*

### **Literatura / References**

1. Al-Anati L, Hogberg J, Stenius U. Non-dioxin-like-PCBs phosphorylate Mdm2 at Ser166 and attenuate the p53 response in HepG2 cells. *Chem Biol Interact* 2009;182(2-3): 191-8.
2. Antonijević B, Čurčić M, Durgo K, Vesković S, Stefanović S. Citotoksični efekti polihlorovanih bifenila. Knjiga sažetaka 10. kongresa toksikologa Srbije sa međunarodnim učešćem; 2010. sep 22-25.; Palić, Srbija. 2010: 164.
3. ATSDR. Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (PCBs). Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, November 2000.
4. Barter RA, Klaassen CD. Reduction of thyroid hormone levels and alteration of thyroid function by four representative UDP-glucuronosyltransferase inducers in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994; 128(1): 9-17.
5. Boix J, Cauli O, Felipo V. Developmental exposure to polychlorinated biphenyls 52, 138 or 180 affects differentially learning or motor coordination in adult rats. *Mechanisms involved. Neuroscience*. 2010; 167(4): 994-1003.
6. Cheek. Potential mechanisms of thyroid disruption in humans: Interaction of organochlorine compounds with thyroid receptor, transthyretin, and thyroid-binding globulin. *Environ Health Perspect* 1999; 107(4): 273-8.
7. Chen J, Liufu C, Sun W, Sun X, Chen D. Assessment of the neurotoxic mechanisms of decabrominated diphenyl ether (PBDE-209) in primary cultured neonatal rat hippocampal neurons includes alterations in second messenger signaling and oxidative stress. *Toxicol Lett* 2010; 192(3): 431-9.
8. Chen G, Konstantinov AD, Chittim BG, Joyce EM, Bols NC, Bunce NJ. Synthesis of polybrominated diphenyl ethers and their capacity to induce CYP1A by the Ah receptor mediated pathway. *Environ Sci Technol* 2001; 35(18): 3749-56.
9. Chen Y, Shen K, Shen C, Chen L, Chen X. Comparison of structure-dependent hormetic cytotoxicity induced by coplanar and non-coplanar PCB congeners. *J Hazard Mater* 2010; 180: 773-6.
10. Coburn CG, Curra's-Collazo MC, Kodavanti PRS. *In Vitro* Effects of Environmentally Relevant Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) Congeners on Calcium Buffering Mechanisms in Rat Brain. *Neurochem Res* 2008; 33: 355-64.
11. Coburn CG, Curras-Collazo MC, Kodavanti PRS. Polybrominated Diphenyl Ethers and ortho-Substituted Polychlorinated Biphenyls as Neuroendocrine Disruptors of Vasopressin Release: Effects during Physiological Activation *In Vitro* and Structure-Activity Relationships. *Toxicol Sci* 2007; 98(1): 178-86.

12. Ćurčić M, Antonijević B, Durgo K, Janković S, Jačević V. Toksikološki značaj i potencijalni rizik pri ekspoziciji polibromovanim difenil etrima. *Arh Farm* 2010; 60: 311-22.
13. De Haan LH, Simons JW, Bos AT, Aarts JM, Denison MS, Brouwer A. Inhibition of intercellular communication by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and dioxin-like PCBs in mouse hepatoma cells (Hepa1c1c7): Involvement of the Ah receptor. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994; 129(2): 283-93.
14. Dingemans MM, de Groot A, van Kleef RG, Bergman A, van den Berg M, Vijverberg HP, Westerink RH. Hydroxylation increases the neurotoxic potential of BDE-47 to affect exocytosis and calcium homeostasis in PC12 cells. *Environ Health Perspect* 2008; 116(5): 637-43.
15. Durgo K, Ćurčić M, Antonijević B, Franekić J, Janković S. Citotoksični efekti određenih kongenera polibromovanih difenil etara. Knjiga sažetaka 10. kongresa toksikologa Srbije sa međunarodnim učešćem. Palić, Srbija, 22-25. septembar, 2010: 13.
16. Eriksson P, Fischer C, Fredriksson A. Polybrominated diphenyl ethers, a group of brominated flame retardants, can interact with polychlorinated biphenyls in enhancing developmental neurobehavioral defects. *Toxicol Sci* 2006; 94(2): 302-9.
17. Hallgren S, Darnerud PO. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and chlorinated paraffins (CPs) in rats – Testing interactions and mechanisms for thyroid hormone effects. *Toxicology* 2002; 177(2-3): 227-43.
18. Hamers T, Kamstra JH, Sonneveld E, Murk AJ, Kester MHA, Andersson PL i sar. *In vitro* profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants. *Toxicol Sci* 2006; 92:157-73.
19. He P, Wang AG, Xia T, Gao P, Niu Q, Guo LJ, Xu BY, Chen XM. Mechanism of the neurotoxic effect of PBDE-47 and interaction of PBDE-47 and PCB153 in enhancing toxicity in SH-SY5Y cells. *Neurotoxicology* 2009; 30: 10-5.
20. Hua XZ, Xua Y, Huc DC, Hui Y, Yang FX. Apoptosis induction on human hepatoma cells Hep G2 of decabrominated diphenyl ether (PBDE-209). *Toxicol Lett* 2007; 171: 19-28.
21. Janković S, Ćurčić M, Radičević T, Stefanović S, Lenhardt M, Durgo K, Antonijević B. Non-dioxin-like PCBs in ten different fish species from the Danube river in Serbia. *Environ Monit Assess* 2010; 181(1-4): 153-63.
22. Juarez de Ku LM, Sharma-Stokkermans M, Meserve LA. Thyroxine normalizes polychlorinated biphenyl (PCB) dose-related depression of choline acetyltransferase (ChAT) activity in hippocampus and basal forebrain of 15-day-old rats. *Toxicology* 1994; 94(1-3): 19-30.
23. Kitamura S, Kato T, Iida M, Jinno N, Suzuki T, Ohta S, Fujimoto N, Hanada H, Kashiwagi K, Kashiwagi A. Anti-thyroid hormonal activity of tetrabromobisphenol A, a flame retardant, and related compounds: Affinity to the mammalian thyroid hormone receptor, and effect on tadpole metamorphosis. *Life Sci* 2005; 76(14): 1589-601.
24. Maurissen E, Fonnum F. Neurochemical targets and behavioral effects of organohalogen compounds: An update. *Crit Rev Toxicol* 2006; 36(3): 253-89.
25. Meerts ATM, Assink Y, Cenijn PH, van den Berg JHJ, Weijers BM, Bergman A i sar. Placental transfer of a hydroxylated polychlorinated biphenyl and effects on fetal

- and maternal thyroid hormone homeostasis in the rat. *Toxicol Sci* 2002; 68(2): 361-71.
26. Messer A. Mini-review: Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants as potential autism risk factors. *Physiol Behav* 2010; 100(3): 245-9.
  27. Parka SH, Jangc JH, Chena CY, Nad HK, Surha YJ. A formulated red ginseng extract rescues PC12 cells from PCB-induced oxidative cell death through Nrf2-mediated upregulation of heme oxygenase-1 and glutamate cysteine ligase. *Toxicology* 2010; 278(1): 131-9.
  28. Pessah IN, Cherednichenko G, Lein PJ. Minding the calcium store: Ryanodine receptor activation as a convergent mechanism of PCB toxicity. *Pharmacology and Therapeutics*. 2010; 125(2): 260-85.
  29. Peters AK, Sanderson JT, Bergman M, van den Berg M. Antagonism of TCDD-induced ethoxyresorufin-O-deethylation activity by polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in primary cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) hepatocytes. *Toxicol Lett* 2006; 164(2): 123-32.
  30. Porterfield SP. Thyroidal dysfunction and environmental chemicals-potential impact on brain development. *Environ Health Perspect* 2000; 108(S3): 433-8.
  31. Reistad T, Fonnum F, Mariussen E. Neurotoxicity of the pentabrominated diphenyl ether mixture, DE-71, and hexabromocyclododecane (HBCD) in rat cerebellar granule cells *in vitro*. *Arch Toxicol* 2006; 80(11): 785-96.
  32. Richardson VM, Staskal DF, Ross DG, Diliberto JJ, DeVito MJ, Birnbaum LS. Possible mechanisms of thyroid hormone disruption in mice by BDE 47, a major polybrominated diphenyl ether congener. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 226(3): 244-50.
  33. Royland JE, Wu J, Zawia NH, Kodavanti PRS. Gene expression profiles in the cerebellum and hippocampus following exposure to a neurotoxicant, Aroclor 1254: Developmental effects. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 231(2): 165-78.
  34. Safe S. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: Environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit Rev Toxicol* 1990; 21(1): 51-88.
  35. Safe S. Polychlorinated biphenyls (PCBs): environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. *Crit Rev Toxicol* 1994; 24(2): 87-149.
  36. Shen K, Shen C, Yu J, Yu C, Chen L, Shi D, Chen Y. PCB congeners induced mitochondrial dysfunction in Vero cells. *J Hazard Mater* 2010.
  37. Tseng LH, Li MH, Tsai SS, Lee CW, Pan MH, Yao WJ, Hsu PC. Developmental exposure to decabromodiphenyl ether (PBDE 209): Effects on thyroid hormone and hepatic enzyme activity in male mouse offspring. *Chemosphere* 2008; 70: 640-7.
  38. Van den Berg. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 2006; 93(2): 223-41.
  39. Xing TR, Yong W, Chen L, Tang ML, Wang M, Chen JT, Ruan DY. Effects of Decabrominated Diphenyl Ether (PBDE 209) on Voltage-Gated Sodium Channels in Primary Cultured Rat Hippocampal Neurons. *Environ Toxicol* 2010; 25(4): 400-8.
  40. Yang JM, Salmon AG, Marty MA. Development of TEFs for PCB congeners by using an alternative biomarker – Thyroid hormone levels. *Regul Toxicol Pharmacol* 2010; 56(2): 225-36.

ENGLISH

**TOXICITY MECHANISMS AND INTERACTIONS OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS AND POLYBROMINATED DIPHENYLETERS**

**Biljana Antonijević, Vesna Milovanović, Marijana Ćurčić, S. Janković, Vesna Jačević, Slavica Vučinić**

Polychlorinated biphenyls (PCBs) and brominated flame retardants, polybrominated diphenylethers (PBDEs), are widespread environmental contaminants as a result of anthropogenic activities and due to their persistency and resistance to degradation. Both groups of chemicals are placed on the list of persistent organic pollutants (POPs), covered by the Stockholm convention which is aimed to limit or ban the production, use, emission, import and export of POPs in order to protect human health and the environment. Taking into account the structural similarity between PCBs and PBDEs, and the known effects of PCBs, these two groups of chemicals could have similar mechanisms of action. Also, because of real simultaneous exposure to these compounds, an examination of possible interactions is of great importance. Interactions of the compounds from these groups are likely at the system level of hormones, particularly thyroid and reproductive ones. As there are mechanisms of adverse effects of both groups of chemicals on the nervous system, including functional, neurological and behavioral changes, there are influences on neurotransmitters, changes in signal transduction and apoptosis. There are interactions affecting the occurrence of metabolic disorders as well. Data on the toxicity of mixtures of PCBs and PBDEs, as well as interactions of these chemicals would contribute to the processes of risk evaluation and risk characterisation.

Key words: polychlorinated biphenyls, polybrominated diphenylethers, mechanisms of action, interactions, risk

РУССКИЙ

**МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ И ИНТЕРАКЦИИ ПОЛИХЛОРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ И ПОЛИБРОМОВАННЫХ ДИФЕНИЛ ЭФИРОВ**

**Билjana Антониевич, Весна Милованович, Миряна Чурчич, Саша Янкович, Весна Ячевич, Славица Вучинич**

Полихлорованные бифенлы (ПХБ) и бромованные замедлители горения, полибромованные дифенил эфиры (ПБЭ) широко распространены в среде обитания как следствие антропогенных активностей и благодаря их постоянства и сопротивляемости на деградацию. Обе группы соединений находятся в списке персистентных органических полутанатов (ПОП) принятой Стокгольмской конвенцией с целью запретить или ограничить производство, употребление, эмиссию или ввоз и вывоз токсических субстанций, обозначенных как ПОП с целью охраны здоровья людей и среды обитания. Принимая во внимание структурное сходство между ПБДЭ и ПХБ, словно и факт, что реальная одновременная экспозиция этими соединениями, испытание их интеракций важны для предвидения результирующего эф-

фекта. Познания в области токсикологии смесей, тоже содействуют процессу исчисления и характеристики риска. Интеракции соединений из этих групп вероятные на уровне эндокринной системы, особенно щитовидной и репродуктивной. Имея в виду механизмы токсичности обеих групп субстанций на нервную систему, включая функциональные изменения, неврологические расстройства и изменения в поведении, возможно ожидать их интеракции и на системах нейротрансмиттеров, изменения в переносе сигналов и вызывание апоптоза, словно и явление метаболических расстройств.

Ключевые слова: полихлорованные бифенолы, полибромованные дифенил эфиры, механизмы токсичности, интеракции, риск