

III. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Bromowane związki uniepalniające (BFRs) stosowane są w wielu gałęziach przemysłu w celu obniżenia łatwopalności lub zredukowania szybkości spalania materiałów, w skład których były włączone. W Europie zastosowanie związków uniepalniających na bazie bromu obejmuje około 25% wszystkich BFRs, natomiast w Chinach jest to ponad 40%. Tetrabromobisfenol A (TBBPA) jest najpowszechniej stosowanym związkiem należącym do BFRs, którego produkcja stanowi 60% wszystkich produkowanych BFRs. Jednakże, ze względu na doniesienia wskazujące na potencjalną toksyczność TBBPA, coraz częściej jako substancję alternatywną wprowadzany jest tetrabromobisfenol S (TBBPS). Dodatkowo ważną grupą BFRs są bromofenole, tj. 2,4-dibromofenol (2,4-DBP), 2,4,6-tribromofenol (2,4,6-TBP) oraz pentabromofenol (PBP). Związki te przedostają się do środowiska zarówno, w wyniku uwalniania się z produktów w skład których były włączone jako substancje uniepalniające, jak również mogą stanowić produkty przemiany lub metabolity innych BFRs. Tak szerokie zastosowanie omawianych związków przyczyniło się do narażenia środowiska, jak również organizmów żywych w tym ludzi. BFRs oznaczono w matrycach środowiskowych, tj. woda, gleba powietrze jak i w tkankach i płynach ustrojowych człowieka.

Przewlekłe narażenie populacji ogólnej na bromofenolowe związki ograniczające palność oraz nieliczne badania dotyczące ich wpływu na komórki układu krwionośnego, skłaniają do podjęcia badań mających na celu określenie mechanizmów działania BFRs na najliczniejsze komórki układu krwionośnego jakim są erytrocyty.

Celem badań było porównanie działania pięciu powszechnie stosowanych BFRs, tj. tetrabromobisfenolu A (TBBPA), tetrabromobisfenolu S (TBBPS), 2,4-dibromofenolu (2,4-DBP), 2,4,6-tribromofenolu (2,4,6-TBP) oraz pentabromofenolu (PBP) na erytrocyty człowieka oraz próba określenia możliwych mechanizmów ich działania. W pracy analizowano potencjał hemolityczny omawianych związków oraz zdolność utleniania hemoglobiny. Ponadto, ocenie poddano wpływ badanych związków na powstanie zmian oksydacyjnych, w tym generowania reaktywnych form tlenu (RFT) i aktywność systemu antyoksydacyjnego. Oznaczono parametry oceniające występowanie śmierci komórki na drodze eryptozy. W badaniach wykorzystano techniki spektrofotometryczne oraz cytofluorymetryczne.

Stwierdzono, że wszystkie badane związki wykazywały potencjał hemolityczny oraz indukowały utlenianie hemoglobiny. Hemolityczny i utleniający potencjał BFRs wzrastał

wraz ze wzrostem stężeń badanych związków, jak również wraz ze wzrostem czasu inkubacji. Co więcej, wykazano, że zarówno liczba pierścieni aromatycznych, jak i liczba bromów w cząsteczce badanych związków wpływa na ich zdolności hemolityczne i oksydacyjne wobec hemoglobiny.

Przeprowadzone eksperymenty dowiodły, że badane związki indukują tworzenie RFT od bardzo niskich stężeń, co może przyczyniać się do wejścia komórki na drogę eryptozy. Ze względu, iż nie zaobserwowano aktywacji kalpain oraz napływu jonów wapnia do komórki stwierdzono, że duże znaczenie w indukcji procesu eryptozy odgrywa stres oksydacyjny, który przyczynia się do aktywacji kaspazy-3, która może wpływać na zahamowanie aktywności translokazy aminofosfolipidowej co powoduje eksponowanie fosfatydyloseryny na zewnętrznej monowarstwie błony. Jest to sygnał dla makrofagów do fagocytozy takich komórek.

Badane związki przyczyniły się również do zaburzeń w systemie antyoksydacyjnym erytrocytów. Stwierdzono, że powodują zmiany (głównie spadek) w aktywności enzymów antyoksydacyjnych, tj. dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) oraz peroksydazy glutationowej (Prx-GSH) jak również zaburzenia w aktywności katalazowej hemolizatu (CAT) i obniżenie poziomu glutationu zredukowanego (GSH). Stwierdzono, że najbardziej znaczący spadek aktywacji enzymów antyoksydacyjnych powodował TBBPA. Wśród bromofenoli natomiast największym wpływem prooksydacyjnym charakteryzował się 2,4-DBP. Wskazuje to na fakt iż liczba atomów bromu nie jest jednoznacznym czynnikiem wpływającym na system antyoksydacyjny erytrocytów człowieka.

Największą toksycznością charakteryzował się TBBPA, najmniejszą zaś stosowany jako jego substytut TBBPS. Uzyskane wyniki (w zakresie prowadzonych analiz) wskazują na zasadność zastępowania TBBPA przez TBBPS.

Ekspertymenty prowadzone w ramach niniejszej pracy dostarczyły dowodów na zróżnicowany cytotoksyczny, proapoptotyczny i prooksydacyjny potencjał badanych bromowanych związków uniepalniających w erytrocytach człowieka. Można wnioskować, że zmiany zachodzące pod wpływem badanych związków przy najmniejszych stężeniach (wzrost RFT) mogą oddziaływać na organizm człowieka w wyniku narażenia środowiskowego lub zawodowego na te substancje. Natomiast dla większości badanych parametrów zmiany zachodziły pod wpływem stężeń, na które człowiek może być narażony zawodowo lub w wyniku zatrucia podostrego badanymi związkami.

Monika Jędrzejczak

IV. STRESZCZENIE W JEZYKU ANGIELSKIM

Brominated flame retardants (BFRs) are used in many branches of industry in order to reduce the flammability or the burning rate of the materials in which they were used. In Europe, BFRs production accounts for 25% of the global market for flame retardants, while in China it is over 40%. Tetrabromobisphenol A (TBBPA) is the most commonly used among BFRs with annual production of 60%. However, due to reports indicating that TBBPA exhibits adverse health effects, tetrabromobisphenol S (TBBPS) is being introduced into the market as an alternative substance. Additionally, an important group of BFRs are bromophenols, i.e. 2,4-dibromophenol (2,4-DBP), 2,4,6-tribromophenol (2,4,6-TBP) and pentabromophenol (PBP). Those compounds are released into the environment from various articles (in which they are used), and enter the ecosystems as transformation products of other BFRs such as polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). Widespread use of the compounds discussed has contributed to the exposure of the environment and living organisms, including humans to their action. BFRs have been determined in the environment, i.e. water, soil, air as well as in human body tissues and fluids.

Chronic exposure of the general population to BFRs and lack of scientific data concerning the impact of these substances on the cells of the circulatory system persuade to conduct studies that would evaluate the mechanism of BFRs action on erythrocytes that are the most abundant cells in the blood.

The aim of this study was to compare the effect of five commonly used BFRs, i.e. tetrabromobisphenol A (TBBPA), tetrabromobisphenol S (TBBPS), 2,4-dibromophenol (2,4-DBP), 2,4,6-tribromophenol (2,4,6-TBP) and pentabromophenol (PBP) on human erythrocytes as well as determine the mechanisms of their action. The study has assessed hemolytic potential of BFRs and their ability to oxidize hemoglobin. In addition, the effect of those substances on oxidative stress induction including reactive oxygen species (ROS) formation and changes in the activities of antioxidant enzymes has been evaluated. Moreover, the parameters, which could indicate the suicidal erythrocyte death (eryptosis) have been determined. Spectrophotometric and cytofluorimetric techniques have been used in this study.

It has been found that all compounds tested exhibited hemolytic potential and induced oxidation of hemoglobin. Hemolytic and oxidative potential of BFRs increased along with increasing concentrations of these substances and elongation of the incubation time. Moreover, it has been shown that both the number of aromatic rings and the number

of bromines in the molecule of the compounds examined influenced their hemolytic and oxidative potential.

The experiments carried out have proven that the compounds tested from very low concentrations induced ROS formation. During analysis of eryptotic changes, we have not observed calpain activation or calcium ion influx into the cell, which showed that mainly oxidative stress contributed to apoptosis induction in human erythrocytes. Probably, ROS activated caspase-3, which inhibited aminophospholipid translocase activity, leading to phosphatidylserine externalization that is a signal for macrophages to remove red blood cells.

The compounds studied also disturbed erythrocyte antioxidant system. It has been found that BFRs caused changes (mainly a decrease) in the activity of antioxidant enzymes, i.e. superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (Prx-GSH) as well as depleted the level of reduced glutathione (GSH). It has been observed that TBBPA most strongly decreased the activity of antioxidant enzymes. Among the bromophenols studied, 2,4-DBP was characterized by the most prooxidative potential, which showed that the number of bromine atoms did not significantly affect the prooxidative properties of these substances.

TBBPA was characterized by the highest toxicity, while its substitute - TBBPS by the lowest. The obtained results (within the parameters studied and cell type tested) have shown that the replacement of TBBPA by TBBPS in the industry is reasonable.

The experiments conducted in this study have shown a diverse cytotoxic, proapoptotic and prooxidative potential of the examined in human erythrocytes. It may be concluded that changes caused by the compounds tested at their lowest concentrations (increase in ROS level) may affect the human body during environmental or occupational exposure. However, most of the parameters studied have been changed at BFRs concentrations, which may influence humans occupationally exposed or acutely poisoned.

Monika Janczewska