



W JAKI SPOSÓB WYSTĘPUJĄCE W ŚRODOWISKU SUBSTANCJE HORMONALNIE CZYNNE WPŁYWAJĄ NA MÓZG?

Małgorzata Kajta (Kraków)

Trwałe zanieczyszczenia organiczne i ich znaczenie jako substancji hormonalnie czynnych

Obserwowany ostatnio znaczny wzrost liczby przypadków autyzmu, zespołu nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD ang. *attention deficit and hyperactivity disorder*) czy trudności w uczeniu się i agresji zwrócił uwagę badaczy i klinicystów na występujące w środowisku substancje hormonalnie czynne i ich możliwy wpływ na funkcjonowanie układu nerwowego. Według Światowej Organizacji Zdrowia te egzogenne substancje hormonalnie czynne zaburzają funkcjonowanie gruczołów wydzielania wewnętrznego, zwłaszcza gonad i tarczycy i w ten sposób wpływają niekorzystnie na organizm, jego potomstwo, a nawet całą populację. Do tych substancji zalicza się trwałe zanieczyszczenia organiczne (POPs; ang. *persistent organic pollutants*), których powstawanie wiąże się najczęściej ze spalaniem i utylizacją odpadów, obróbką tworzyw sztucznych, względnie produkcją przemysłową. Wymienia się wśród nich m.in. dioksyny, polichlorowane bifenyle, pestycydy, fungicydy czy też składniki plastiku w postaci bisfenolu A czy ftalanów. Dowiedziono, że oprócz zaburzania funkcji endokrynnych i działania jak „*endocrine disrupting chemicals*”, wiele z tych substancji upośledza neuroprzebieżność i tworzenie sieci neuronalnych, a więc działa jak „*neural disrupting chemicals*”. Biorąc pod uwagę, że okres półtrwania tych substancji może sięgać nawet kilkudziesięciu lat, konieczność radzenia sobie z zagrożeniem będzie stawać przed badaczami wciąż nowe wyzwania.

Zagrożenia związane z występowaniem w środowisku trwałych zanieczyszczeń organicznych

Wiedza na temat wpływu trwałych zanieczyszczeń organicznych na układ nerwowy jest fragmentaryczna i dotyczy głównie efektów toksycznych pojawiających się w wyniku narażenia na stosunkowo wysokie dawki tych związków. O ich toksycznym działaniu przekonano się diagnozując tzw. chorobę Yusho w Japonii (1968) i chorobę Yu-Cheng na Tajwanie (1979), czy też analizując przypadki zatrucia związanych z zanieczyszczeniem przez dioksyny jeziora Michigan.

Problemy kliniczne wynikające z zatrucia przez trwałe zanieczyszczenia organiczne wiązano wówczas z zaburzeniami funkcji tarczycy i gonad, osłabieniem odporności, a także upośledzeniem psychomotoryki i zwiększoną zapadalnością na hormono-zależne choroby nowotworowe. Analiza przebiegu ciąży u kobiet, które uległy zatruciu dioksynami w wyniku katastrofy w Seveso, Włochy, (1976) wykazała wzrost liczby samoistnych poronień w pierwszych 4 miesiącach ciąży oraz podwojenie się ryzyka wystąpienia wad wrodzonych u niemowląt, jak np. rozszczep kręgosłupa, wielopalczałość czy spodziectwo. Badania korelacyjne przeprowadzone na około 2 tysiącach dzieci i wnuków byłych żołnierzy – ofiar zatrucia środkiem *Orange Agent* (zawierał TCDD; tetrachlorodibenzeno-*p*-dioksyna) w Wietnamie wykazały także wzrost liczby narodzin dzieci bez prawidłowo wykształconego mózgu. Ponadto te badania dowiodły, że prenatalna ekspozycja na dioksyny spowodowała u dzieci opóźnienia neurorozwojowe, które manifestowały się m.in. upośledzeniem funkcji poznawczych i niskim ilorazem inteligencji. Najnowsze dane sugerują również znaczenie trwałych zanieczyszczeń organicznych w etiologii chorób cywilizacyjnych, takich jak np. otyłość czy cukrzyca typu II.

Kamienie milowe w badaniach nad obecnymi w środowisku substancjami hormonalnie czynnymi

W przeciwieństwie do efektów toksycznych, niewiele wiadomo na temat wpływu na układ nerwowy bardzo niskich dawek trwałych zanieczyszczeń organicznych. Działanie niskich dawek tych substancji, polega bowiem głównie na zaburzaniu równowagi hormonalnej organizmu, co jest trudniejsze do oceny, zwłaszcza gdy w grę wchodzi rozwijający się mózg. Kamieniami milowymi w badaniach nad szkodliwym wpływem obecnych w środowisku substancji zaburzających funkcje endokrynne (EDCs; ang. *endocrine disrupting chemicals*) były prace Rachel Carson, *A silent Spring* (1962), oraz Theo Colborn'a i wsp., *Our Stolen Future* (1993). Rachel Carson zwróciła zwłaszcza uwagę na znaczenie pestycydu DDT (1,1,1-trichloro-2,2-bis-*p*-chlorofenylotan) w upośledzaniu układu rozrodczego, czego spektakularnym

przykładem było wymieranie ptaków śpiewających i tzw. „niema/milcząca wiosna”. Natomiast Theo Colborn oraz Dianne Dumanoski i John Peterson Myers sformułowali teorię, tzw. *Endocrine Disruption Theory*, w myśl której, obecne w środowisku substancje hormonalnie czynne wpływają niekorzystnie nie tylko na gonady i rozród, lecz także na inne funkcje organizmu i mózg.

Mechanizmy działania substancji zaburzających funkcje endokrynne

Działanie obecnych w środowisku substancji hormonalnie czynnych angażuje najczęściej receptory hormonów płciowych i hormonów tarczycy, względnie receptory węglowodorów aromatycznych (AhR; ang. *aryl hydrocarbon receptor*). Coraz częściej wymienia się w tym kontekście również receptor aktywowany proliferatorami peroksyosomów typu gamma (PPAR γ ; ang. *peroxisome proliferator-activated receptor gamma*), receptor pregnanu X (PXR; ang. *pregnane X receptor*), konstytutywny receptor androstanu (CAR; ang. *constitutive androstane receptor*) czy receptory kwasu retinowego (RAR; ang. *retinoic acid receptor*; RXR; *retinoic X receptor*). Receptory hormonów steroidowych są czynnikami transkrypcyjnymi zależnymi od liganda, podobnie jak są nimi receptory tyroksyny, węglowodorów aromatycznych czy kwasu retinowego. Receptory te występują w cytoplazmie, a z chwilą związania się z ligandem tworzą dimery i przedostają się do jądra komórkowego, gdzie łączą się najczęściej z fragmentem genu docelowego, np. ERE (ang. *estrogen response element*) dla estrogenów czy TRE (ang. *thyroid response element*) dla hormonów tarczycy.

Spośród mechanizmów działania substancji zaburzających funkcje endokrynne najlepiej poznano te, które polegają na naśladowaniu lub też upośledzeniu działania estrogenów. Dowiedziono bowiem, że tzw. *non dioxin-like* PCB (np. PCB 153) i bisfenol A działają zwykle estrogenie, gdy tymczasem tzw. *dioxin-like* PCB (np. PCB 123) i dioksyna TCDD wywołują szereg efektów anty-estrogennych. W tych anty-estrogennych efektach uczestniczą receptory węglowodorów aromatycznych. Nasze badania (2007, 2009) wskazały po raz pierwszy na obecność receptorów węglowodorów aromatycznych (AhR) w tych samych komórkach nerwowych co receptory estrogenowe typu β (ER β), dając tym samym funkcjonalną podstawę do wzajemnych interakcji tych receptorów w układzie nerwowym. Oprócz efektów wywołanych przy udziale receptorów, egzogenne substancje hormonalnie czynne wywołują także skutki

niegenomowe polegające m.in. na szybkim wzroście stężenia jonów Ca²⁺ w neuronach, spadku potencjału mitochondrialnego czy aktywacji kinazy białkowej C (PKC) typu alfa. Wśród tych efektów wymienia się także nasilenie produkcji reaktywnych cząstek tlenu, głównie anionów nadtlennokowych, co prowadzi do stresu oksydacyjnego, a dalej do peroksydacji lipidów, fragmentacji DNA i uszkodzenia błony komórkowej neuronów i gleju.

Znaczenie endogennych hormonów w neurorozwoju, różnicowaniu płci mózgu i chorobach ośrodkowego układu nerwowego

W opinii wielu badaczy rola, jaką endogenne hormony pełnią w neurorozwoju jest niedoceniona. Warto zatem podkreślić, że zmiany jakim ulega rozwijający się mózg pod wpływem endogennych hormonów ujawniają się w dojrzałym mózgu. Przykładem jest chociażby upośledzenie funkcji poznawczych w następstwie niedoboru hormonów tarczycy w okresie płodowym, czy też nieprawidłowy rozwój mózgu obserwowany u myszy pozbawionych receptora estrogenowego typu β (ER β). Uważa się, że hormony tarczycy są istotne dla migracji i różnicowania neuronów, mielinizacji i synaptogenezy. Trójiodotyronina wpływa bowiem na ekspresję genów kodujących czynniki wzrostu i czynniki transkrypcyjne hamując w ten sposób cykl komórkowy i proliferację, a indukując różnicowanie. Z kolei tyroksyna stymuluje polimeryzację aktyny w dojrzewających neuronach, a także syntezę i transport lamininy na powierzchnię astrocytów, co ma istotne znaczenie w migracji neuronów. Natomiast estrogeny sprzyjają proliferacji astrogleju i macierzystych komórek nerwowych oraz przeżywaniu neuronów. Estrogeny dostają się do mózgu z narządów peryferyjnych lub też są w mózgu syntetyzowane, co zachodzi przy udziale aromatazy – enzymu, który katalizuje końcowy etap syntezy estrogenów i występuje w astrocytach i neuronach. Estrogeny wpływają również na plastyczność synaptyczną, przypuszczalnie poprzez stymulację gęstości tzw. kolców dendrytycznych oraz oddziaływanie na umiejscowione w synapsach receptory estrogenowe typu α (ER α). Najnowsze badania wskazują na wzajemne oddziaływanie szlaków angażujących receptory hormonów płciowych i hormonów tarczycy podczas neurorozwoju.

W porównaniu z mózgiem kobiety, mózg dorosłego mężczyzny jest bardziej zlateralizowany, nieco większy (2–3 % z uwzględnieniem wzrostu mężczyzny), i zawiera nawet 6-krotnie więcej istoty szarej, zaś istoty białej prawie 10-krotnie mniej. Kora prawej

półkuli mózgu jest grubsza u mężczyzn, a kora półkuli lewej – u kobiet. Różnice między mózgiem kobiety i mężczyzny dotyczą zwłaszcza podwzgórza, które jest strukturą zaangażowaną w regulację poziomu hormonów i zachowań seksualnych. U człowieka różnicowanie płci mózgu odbywa się po 6–7 tygodniu ciąży, zaś u gryzoni – po 17 dniu ciąży, a więc wówczas, gdy u płodów wykształciły się już gonady. Obecnie uważa się, że w początkowym okresie rozwoju nietknięty przez hormony płciowe mózg jest żeński. Jego różnicowanie w męski odbywa się pod wpływem wytwarzanych przez męskie gonady androgenów, które są u gryzoni przekształcane w estradiol. Natomiast u samic występuje α -fetoproteina, która wiąże wytwarzany przez żeńskie gonady estradiol i uniemożliwia jego oddziaływanie na kształtujący się mózg.

Hormony płciowe mogą mieć również wpływ na przebieg i częstość występowania chorób układu nerwowego. Estrogeny wykazują działanie ochronne w odniesieniu do chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera, choroba Parkinsona czy choroba Huntingtona, a także uszkodzeń mózgu wywołanych niedokrwieniem. Spośród tych schorzeń tylko choroba Alzheimera występuje częściej u kobiet i ma u nich bardziej nasilone objawy niż u mężczyzn. Natomiast choroba Parkinsona, choroba Huntingtona i różnego rodzaju uszkodzenia mózgu o podłożu niedokrwieniowym występują częściej u mężczyzn i w młodszym wieku niż u kobiet. Co więcej, wykazano, że podczas gdy estrogeny chronią mózg przed niedokrwieniem, androgeny potęgują niekorzystne skutki tego zjawiska. Hormony płciowe mogą również wpływać na ryzyko wystąpienia chorób psychicznych. Okazuje się bowiem, że mężczyźni cierpią na autyzm 4-krotnie częściej niż kobiety, a schizofrenia ujawnia się u nich 3–4 lata wcześniej niż u kobiet. Inaczej jest w przypadku zaburzeń lękowych i depresji, które co najmniej w pewnych przedziałach wiekowych częściej dotyczą kobiet niż mężczyzn. Przykładem szczególnie dużej dysproporcji w zapadaniu na choroby układu nerwowego jest stwardnienie rozsiane, na które 2–4-krotnie częściej chorują kobiety niż mężczyźni.

Wpływ występujących w środowisku substancji hormonalnie czynnych na procesy rozwojowe i plastyczne ośrodkowego układu nerwowego

Dane eksperymentalne

Występujące w środowisku substancje hormonalnie czynne mogą przekraczać barierę łożysko-mózg, jednak wiedza na temat wpływu tych substancji na układ

nerwowy, zwłaszcza na wczesnych etapach rozwoju, jest niewielka. W opinii wielu badaczy wynika to w znacznej mierze z niedocenia roli endogennych hormonów w neurorozwoju. Interakcje egzogennych substancji hormonalnie czynnych z działaniem endogennych hormonów we wczesnym okresie rozwoju mogą mieć daleko idące implikacje ujawniające się w dojrzałym układzie nerwowym.

Nieliczne dane sugerują, że prenatalna ekspozycja gryzoni na bisfenol A (BPA) zmienia poziom metylacji niektórych genów, co zaburza rozwój mózgu i może prowadzić m.in. do zaniku różnic między mózgiem męskim i żeńskim. Dla przykładu, miejsce sinawe (łac. *locus coeruleus*) jest mniejsze u samców niż u samic, ale pod wpływem BPA ta struktura zwiększa się u samców, zaś maleje u samic. W okresie prenatalnym BPA przyspiesza różnicowanie i migrację neuronów, hamuje indukowaną estradiolem spinogenezę, uszkadza komunikację między wzgórzem a korą mózgową, a także zmniejsza ekspresję podjednostek receptora NMDA i receptora estrogenowego β (ER β) w hipokampie. Konsekwencją prenatalnej lub wczesno postnatalnej ekspozycji na BPA jest też nasilenie aktywności ruchowej i zachowań lękowych oraz upośledzenie procesów poznawczych.

Zaburzenia rozwojowe i plastyczne mózgu mogą również wynikać z narażenia na polichlorowane bifenyle, dioksyny czy pestycydy, co może się wiązać z obniżeniem poziomu endogennych hormonów np. hormonów tarczycy, upośledzeniem funkcji neuronów GnRH (hormon uwalniający gonadotropinę), a także szlaków dopaminergicznych i serotonergicznych. Wykazano bowiem, że prenatalna ekspozycja na polichlorowany bifenyl PCB153 wywołuje u postnatalnych szczurów zmiany w poziomie dopaminy i serotoniny w hipokampie i podwzgórzcu. Z kolei prenatalna lub wczesno-postnatalna ekspozycja na dioksynę TCDD prowadzi u gryzoni do odwrócenia dominacji półkul mózgowych, demaskulinizacji zachowań samczych oraz upośledzenia procesów poznawczych. Szereg badań wykazało, że pestycydy jak np. fosforany organiczne czy DDT są szkodliwe dla neuroprzeżywalności dopaminergicznego, co manifestuje się u zwierząt m.in. zaburzeniami aktywności ruchowej. Uważa się, że niskie dawki pestycydów mogą tę aktywność zwiększać, zaś wysokie – hamować, a nawet prowadzić do neurodegeneracji w rodzaju choroby Parkinsona czy choroby Alzheimera. Z naszych najnowszych badań wynika, że podanie ciężarnym myszom pestycydu DDT prowadzi u potomstwa do zależnych od płci zaburzeń o charakterze depresyjnym.

Dane epidemiologiczne

Dane epidemiologiczne na temat wpływu egzogen-nych substancji hormonalnie czynnych na neuroroz- wój są często sprzeczne i budzą szereg kontrowersji. Większość z tych substancji przekracza barierę krew- móżg i akumuluje się w mózgu. Dla przykładu, stę- żenie DDT i PCB w mózgu człowieka może sięgać rzędu mg/kg tłuszczu. Podstawowa trudność pole- ga jednak na uwzględnieniu czynników, takich jak np. różne sposoby narażenia (np. z krwią matki, w czasie laktacji), różne okresy rozwoju człowieka, a także różne dawki i czas ekspozycji. Dodatkowo, rzecz całą komplikuje jeszcze bogactwo strukturalne i różnorodność mechanizmów działania wymienio- nych substancji. Obecnie istnieje pogląd, że egzogen- ne substancje hormonalnie czynne oddziałują głównie na centralne neurony monoaminergiczne, zwłaszcza zaś hamują rozwój neuronów dopaminergicznych, co może mieć znaczenie w etiologii chorób rozwo- jowych i wiązać się z upośledzeniem plastyczności mózgu, funkcji poznawczych i pamięci.

Od niedawna za czynnik ryzyka wystąpienia autyzmu uważa się prenatalne narażenie na ftalan- ny, które są składnikami plastiku i występują m.in. w materiałach podłogowych. Co więcej wykaza- no, że ftalany obniżają poziom testosteronu u doro- słych mężczyzn, co może zaburzać u nich pamięć i orientację przestrzenną, a także zwiększać ryzyko demencji. Stwierdzono również silną korelację mię- dzy poziomem ftalanów i pojawieniem się symp- tomów zespołu nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD) u dzieci w wieku 8–11 lat. Podobne obserwacje poczyniono analizując prenatal- ne narażenie na inny składnik plastiku, bisfenol A (BPA). Wykazano bowiem, że ta egzogenna substan- cja hormonalnie czynna nasila aktywność ruchową i agresję u 2-letnich dzieci. Coraz częściej szkodliwe działanie BPA jest też związane z zaburzeniem funk- cji poznawczych i autyzmem, a ostatnio również ze schizofrenią. Podobnie jak w przypadku składników plastiku, wykazano związek prenatalnej ekspozycji na pestycydy z częstszym występowaniem autyzmu i ADHD, a także z upośledzeniem rozwoju psychoru- chowego niemowląt obserwowanym głównie między 6 a 12 miesiącem życia. Ponadto, większość dostę- pnych danych wskazuje na szkodliwy wpływ prena- talnej ekspozycji na polichlorowane bifenyly (PCBs), policykliczne węglowodory aromatyczne (PAH; ang.

polycyclic aromatic hydrocarbon), polichlorowane dibenzo-p-dioksyny (PCDD; ang. *polychlorinated dibenzo-p-dioxin*) czy polibromowane difenyletery PBDE; ang. *polybrominated diphenyl ethers*) na roz- wój intelektualny i/lub psychoruchowy niemowląt i dzieci (od 6 miesięcy do 6 lat).

Perspektywy badawcze

Człowiek jest skazany na narażenie na występu- jące w środowisku substancje hormonalnie czynne. Aby uchronić się przed ich szkodliwym wpływem, konieczne wydaje się zarówno zdefiniowanie zabu- rzeń rozwojowych związanych z ekspozycją na te substancje, jak i poznanie mechanizmów ich działa- nia, zwłaszcza w odniesieniu do okresu prenatalnego i wczesnego okresu postnatalnego, gdy układ nerwo- wy dopiero się kształtuje i jest szczególnie wrażliwy na zaburzenia homeostazy względnie homeodynami- ki organizmu.