Estrogenowe działanie chromu – ważny metaloestrogen w modulowaniu szlaków endokrynnych

Ewa Sawicka, Karolina Jurkowska, Agnieszka Piwowar

Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Adres do korespondencji: Ewa Sawicka, Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław, e-mail: ewa.sawicka@umed.wroc.pl

Ksenoestrogeny i metaloestrogeny w zaburzeniach endokrynnych

W środowisku człowieka występuje wiele związków mogących naśladować działanie naturalnie występujących w organizmie endogennych estrogenów (estradiol, estron, estriol). Związki egzogenne o aktywności estrogenowej są to substancje zarówno pochodzenia naturalnego, jak i związki powstające w wyniku syntez chemicznych. Działając jako agoniści lub antagoniści endogennych hormonów, wpływają znacząco na równowagę hormonalną organizmu. Związki te nazywane są ksenoestrogenami (ang. *Xenoestrogens*, XEs), a każdego roku odkrywane są nowe, o potencjalnym wpływie na układ endokrynną. Związki należące do XEs są strukturalnie podobne do naturalnych estrogenów, a także ich syntetycznych analogów, np. etynyloestradiolu. Dzięki temu mają zdolność do wiązania się z receptorami estrogenowymi (ang. *estrogen receptors*, ERs) i na tej drodze do modulowania funkcjonowania układu hormonalnego [1, 2]. Według definicji amerykańskiej federalnej Agencji Ochrony Środowiska (ang. *Environmental Protection Agency*, EPA) EDCs to egzogenne czynniki ingerujący w syntezę, wydzielanie, transport, metabolizm i eliminację hormonów odpowiedzialnych za utrzymanie homeostazy, reprodukcję i rozwój. Wg Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO) dysruptory endokrynną są substancjami egzogennymi lub mieszaninami substancji, które wpływają na zmianę funkcjonowania układu hormonalnego, wywołując niekorzystne skutki w organizmie człowieka, jego potomstwa lub poszczególnych subpopulacji [3, 4]. XEs wpływają przede wszystkim na syntezę,

Estrogenic effect of chromium – an important metalloestrogen in the modulation of endocrine pathways

There are many compounds in the human environment that can impinge on the action of endogenous estrogens that are naturally occurring in the body. These compounds are referred to as xenoestrogens or endocrine disruptors. Their characteristic feature is modulation of endocrine pathways by interacting with the same estrogen receptors due to structural homology as physiological estrogens. A separate class of xenoestrogens are compounds that, although they have a different structure, may also interact with the estrogen receptor but through other mechanisms. Such compounds are called metalloestrogens, one of them is chromium. This applies to both hexavalent Cr (VI) and trivalent Cr (III) chromium. Exposure to Cr (VI) is associated with environmental exposure and development, and Cr (III) mainly with its widespread use in the form of dietary supplements, multivitamin supplements or sports nutrition. Therefore, this element can play an important role in inducing endocrine disorders. In addition to the receptor mechanism associated with displacement of zinc ions from the zinc-estrogen receptor fingers, chromium ions also show activity in the induction of oxidative stress, the production of free radicals and reactive oxygen species, and damage DNA. In this article, based on available literature, the mechanisms of xenoestrogens and metalloestrogens have been presented, including chromium, which occurs in the body at various degrees of oxidation, as well as their effect on modulation of endogenous estrogen pathways.

Keywords: chromium, estrogens, metalloestrogens, endocrine disruptors

© Farm Pol, 2019, 75(7): 357–364

uwalnianie, transport, metabolizm, wiązanie, działanie lub eliminację estrogenów i ich metabolitów, ale także androgenów oraz innych hormonów (np. progesteronu, kortyzonu). Konsekwencją ich działania w organizmie człowieka są zaburzenia endokrynną o różnym nasileniu, stąd też są one również

nazywane endokrynnie aktywnymi modulatorami hormonalnymi (ang. *endocrine-disrupting compounds*, EDCs) lub zaburzacami endokrynnymi [1, 5]. Dane z piśmiennictwa wskazują, iż narażenie na EDCs koreluje dodatnio ze wzrostem liczby chorób nowotworowych, otyłością, zaburzeniami endokrynologicznymi, dyshormonozą z eutyreozą, zmianami behawioralnymi, zaburzeniami reprodukcyjnymi [3, 6].

W dużej grupie związków zaliczanych do ksenoestrogenów wyróżnia się kilka podgrup:

- 1) fitoestrogeny – związki pochodzenia naturalnego (np. sitosterol, genisteina, resweratrol);
- 2) mykoestrogeny (np. zearalenon),
- 2) metaloestrogeny (np. chrom, kadm, arsen i inne);
- 3) pestycydy (np. DDT – dichlorodifenylotrichloroetan);
- 4) parabeny – konserwanty kosmetyczne (np. estry kwasu p-hydroksybenzoesowego);
- 5) środki farmaceutyczne lub terapeutyczne (np. DES – diethylstilbestrol) i ich metabolity (np. metabolity leków stosowanych w doustnej terapii antykoncepcyjnej u kobiet);
- 6) chemikalia przemysłowe, detergenty oraz inne syntetyczne związki (np. NP-4-nonylfenol, BPA – bisfenol A).

Liczba EDCs jest bardzo duża (waha się od kilkudziesięciu do nawet kilkuset) i nadal się zwiększa, a ich występowanie jest powszechne w związku z rozwojem przemysłowym i ekonomicznym. Obecne są one między innymi w wodzie, glebie, środkach ochrony roślin, środkach higieny osobistej oraz żywności, stanowiąc nieustanne źródło ekspozycji na XEs. Ponadto, ogromne różnicowanie chemiczne tych substancji związane jest z możliwością ich wniknięcia do organizmu wieloma drogami, przez układ pokarmowy, oddechowy lub przez skórę [7, 8, 9].

Ksenoestrogeny wpływając na gospodarkę hormonalną powodują liczne zaburzenia w fizjologicznym funkcjonowaniu organizmu człowieka, jednakże efekt ich działania jest zróżnicowany pod względem płci. Wykazano, że u kobiet związki o działaniu estrogennym mogą zaburzać gospodarkę hormonalną. Ponadto, ekspozycja na XEs może być przyczyną bezpłodności oraz wystąpienia nowotworów endometrium czy gruczołu sutkowego [6, 7]. Wysłunięto hipotezę, że narażenie w okresie płodowym na EDCs może stanowić wyjaśnienie przyczyny wzrastającej tendencji zaburzeń płodności, zwłaszcza związanej z czynnikiem męskim (m.in. obniżenie jakości spermy, wzrost występowania malformacji narządowych) [6, 10, 11]. Niezależnie od płci XEs mogą osłabiać aktywność układu odpornościowego poprzez wpływ na syntezę immunoglobulin i hamować w konsekwencji funkcje układu immunologicznego [12].

Ważną, ze względów toksykologicznych, grupą ksenoestrogenów są metaloestrogeny (ang. *metaloestrogens*, MEs), czyli jony metali, których działanie estrogenne również polega na wpływie na ERs – bezpośrednio poprzez wiązanie się z ER lub pośrednio, przez indukowanie stresu oksydacyjnego (OS) i imitowanie działania estrogenów endogennych. Wykazano, że narażenie na ten rodzaj związków egzogennych jest czynnikiem znacząco zwiększającym ryzyko zachorowania na choroby nowotworowe, m.in. raka gruczołu sutkowego. Ma to tym większe znaczenie, że związki należące do tej grupy są powszechne w narażeniu środowiskowym i ekspozycji zawodowej oraz ulegają biokumulacji w organizmie (np. chrom kumuluje się w wątrobie, nerkach, płucach, szpiku kostnym). Jako główne źródła MEs wskazuje się suplementy diety, dym papierosowy, pożywienie (głównie rośliny korzeniowe), zanieczyszczoną glebę i wodę oraz produkty przemysłu (pary, pyły, aerozole) [9, 13, 14].

Mechanizm działania ksenoestrogenów i/lub metaloestrogenów

Ksenoestrogeny lub metaloestrogeny naśladują działanie estrogenów endogennych, jednak mechanizm ich działania nie jest jednorodny. Początkowo uważano, że polega głównie na powinowactwie do receptorów estrogenowych, a także androgenowych, progesteronowych, tyroidowych i innych. Jednak mechanizm ten okazał się bardziej złożony ze względu na fakt, że związki te mogą ulegać w organizmie przemianom, a ich metabolity wykazują właściwości odmienne od postaci wyjściowych. Wykazano, że metabolity cechują się również powinowactwem do receptorów membranowych oraz do neurotransmiterów (serotoniny, dopaminy, norepinefryny) [3, 15]. W piśmiennictwie naukowym opisuje się, że EDCs mogą wpływać na komórki poprzez dwa zasadnicze mechanizmy:

- 1) genomowy, polegający na bezpośrednim ich oddziaływaniu z receptorem estrogenowym, a także z DNA, czego konsekwencją jest zmiana ekspresji genów, oraz
- 2) poprzez złożony mechanizm niegenomowy, związany m.in. z indukowaniem OS na drodze różnych szlaków, polegających na szybkim działaniu estrogenów, aktywującym kaskady białkowo-kinazowe, które zlokalizowane są zarówno w błonie komórkowej, cytoplazmie, mitochondriach, jak i w jądrze komórkowym [16, 17].

Odpowiedź komórki na działanie estrogenów endo- i/lub egzogennych przez mechanizm genomowy ma charakter długoterminowy. Ligandy przedostają się do komórki na drodze dyfuzji i wiążą się z ERs. Przyłączenie to powoduje aktywację

receptora, oddysocjowanie białek opiekuńczych i połączenie się ich w dimery, a także fosforylację receptorów. Następuje zmiana konformacji receptora, co umożliwia addycję dimerów do określonej sekwencji DNA, nazywanej elementem odpowiedzi na estrogeny (ang. *estrogen response element*, ERE) znajdującej się w regionie promotorowym danego genu, powodując ich ekspresję. Receptor estrogenowy jest receptorem jądrowym, przy czym wyróżnia się dwa typy receptorów estrogenowych: α i β (ER α , ER β). Ponadto, istnieją niejądrowe receptory estrogenowe związane z błoną komórkową [2, 18]. Ekspresję ER α stwierdzono przede wszystkim w macicy, jajnikach, gruczołach sutkowych oraz podwzgórzu, zaś ER β w jajnikach, tkance kostnej, gruczole krokowym, płucach, naczyniach krwionośnych i mózgu. Jeżeli receptory ER α i ER β występują w jednym rodzaju komórek, to działanie receptora ER β znosi wszystkie efekty działania ER α . Receptory jądrowe działają podobnie jak czynniki transkrypcyjne, które modulują ekspresję odpowiednich genów. Nasilona transkrypcja genu docelowego tworzy nową nić mRNA, która służy jako matryca do syntezy białek w komórce [19, 20, 21].

ER α kodowany jest przez gen ESR1 zlokalizowany na chromosomie 6, zaś gen dla ER β umiejscowiony jest na chromosomie 14. Receptory estrogenowe to struktury białkowe: ER α zbudowany jest z 595 aminokwasów, zaś ER β z 485 aminokwasów. Każdy z nich składa się z 6 domen funkcjonalnych. Najważniejszą z nich jest domena A/B, która odpowiada za aktywację transkrypcji. Pozostałe domeny to: domena DBD (ang. *DNA binding domain*), domena zawiasowa, domena LBD (ang. *ligand-binding domain*) i domena C-końcowa. Receptory różnią się między sobą powinowactwem wobec poszczególnych ligandów, np. estradiol wykazuje mniejszy stopień związania z ER β niż z ER α [22, 23, 24]. Budowę receptora estrogenowego schematycznie przedstawiono na **rycynie 1**.

Niegenomowy mechanizm działania estrogenów endo- i/lub egzogennych nie wymaga łączenia receptorów estrogenowych z DNA, jednakże jest on bardzo złożony i nie do końca poznany. Wiadomo jednak, że niegenomowy system przekazywania sygnału przez estrogeny jest zależny od rodzaju komórki na którą działa, a efekty wywołane za jego pośrednictwem ujawniają się znacznie szybciej niż wywołane przez mechanizm genomowy [19, 26]. Największą rolę wydają się odgrywać receptory błonowe (ang. *membrane estrogen receptors*; mERs), które mają wpływ na działanie błonowych kanałów jonowych, receptorów metabotropowych (związanych z białkiem G), kinazy tyrozynowej oraz białkowych kinaz aktywowanych mitogenem (ang. *mitogen-activated protein kinases*; MAPK). Ponadto, wpływają na działanie cykazy adenylowej, a tym samym na ilość powstającego cAMP, będącego przekaźnikiem drugiego rzędu oraz na fosfolipazę C, zwiększając stężenie jonów wapnia w komórkach. Niegenomowy mechanizm działania, poza wymienionymi komponentami, może także wpływać na regulację transkrypcji, stanowiąc alternatywny mechanizm regulacji ekspresji genów [18, 25, 27].

Specyficzne działanie metaloestrogenów na ERs, które strukturalnie nie imitują typowych endogennych ligandów estrogenowych, związane jest przede wszystkim z oddziaływaniem w obszarze specyficznych struktur obecnych w ERs, mających zdolność wiązania jonów metali, tzw. motywów palców cynkowych (ang. *zinc finger domain*). Jest to rodzaj domeny białkowej składającej się z dwóch reszt cysteiny oraz jonów cynku (Zn^{2+}). Występuje w białkach wiążących się z DNA, jak np. właśnie ERs, i bierze bezpośredni udział w odpowiedzi na działanie związków endo- lub egzogennych, oddziałując z DNA przez receptor [16, 28]. Palce cynkowe są częścią ERs. Powstają poprzez przyłączenie jonu cynku do reszt cysteinowych znajdujących się we fragmencie DBD receptora estrogenowego.

Rycina 1.
Schemat budowy receptora estrogenowego [9, 25].

Figure 1.
Diagram of the estrogen receptor structure [9, 25].

Palce cynkowe - element struktury białka rozpoznający sekwencje DNA, występuje w wielu czynnikach transkrypcyjnych (TF)

Rycina 2.
Schemat budowy palca cynkowego [30].

Figure 2.
Diagram of zinc finger construction [30].

Jon cynku jest kluczowy dla zachowania prawidłowej struktury palca cynkowego. Metaloestrogeny wypierają jony cynku z tych struktur. Może on zostać zastąpiony innym jony metalu, o większym powinowactwie do reszt cysteinowych (np. jony niklu, miedzi lub właśnie chromu), czego skutkiem jest zmiana zdolności wiązania receptora. Dowiedzono, że metaloestrogeny modyfikują klasyczną strukturę ERs przede wszystkim w obszarze domeny DBD, a finalnie także całego receptora estrogenowego. Obecność metaloestrogenu może także doprowadzać do wypierania estradiolu z domeny LBD receptora estrogenowego i blokowania dostępu endogennego liganda. W wyniku zmian w strukturze receptora dochodzi do pobudzenia mechanizmu genomowego, czego konsekwencją jest indukowanie zaburzeń gospodarki hormonalnej, a niezależnym szlakiem jest udział w wytwarzaniu reaktywnych form tlenu (RFT) i indukowaniu OS [19, 29]. Na **rycinie 2** przedstawiono schemat budowy palca cynkowego, stanowiącego element struktury białka, rozpoznający sekwencję DNA.

Skutki działania ksenoestrogenów i/lub metaloestrogenów

Ze względu na zakłócanie fizjologicznych procesów regulowanych hormonalnie, XEs/MEs uważane są za istotne czynniki etiologiczne różnych stanów patologicznych. W wyniku ich działania może dojść do zmian w ich funkcjonowaniu – pobudzenia lub zahamowania receptorów estrogenowych,

co związane jest też ze zmianami w ich strukturze przestrzennej, w wyniku oddziaływania z tymi związkami. Znajomość interakcji ligand-receptor pozwala uniknąć negatywnych skutków działań tych związków, a co więcej może stać się bardzo dobrym narzędziem stosowanym w terapii nowotworów hormonozależnych przy zastosowaniu hormonalnej terapii zastępczej (HTZ). Przykładowo w HTZ największe zastosowanie znalazł 17- β -estradiol, stosuje się również inne estrogeny: estriol, estron oraz końskie estrogeny, tj. ekwilenina, ekwilenina, hipulina [7, 27, 31]. Natomiast w leczeniu nowotworów największe uznanie zyskał tamoksifen, który jest selektywnym modulatorem receptora estrogenowego (ang. *selective estrogen receptor modulator*, SERM) i wiążąc się z ERs na komórkach nowotworowych, blokuje możliwość ich stymulacji przez estrogeny [8]. Związki hormonopodobne podejrzewane są także o powodowanie zmian w syntezie oraz transporcie estrogenów endogennych, ze względu na oddziaływanie z enzymami uczestniczącymi w tych procesach, co może istotnie zaburzyć równowagę hormonalną organizmu, a z uwagi na powszechne występowanie ERs w organizmie, ekspozycja na XEs może powodować różnorodne, negatywne skutki praktycznie w całym organizmie [7].

Ze względu na zakłócanie fizjologicznych procesów regulowanych hormonalnie, ksenoestrogeny i/lub metaloestrogeny uważane są za istotne czynniki etiologiczne różnych stanów patologicznych. U kobiet długotrwała ekspozycja na MEs/XEs

może zaburzać gospodarkę hormonalną, prowadzić do zaburzeń cyklu menstruacyjnego, niepłodności, poronień, malformacji płodów. Narażenie kobiet ciężarnych na polichlorowane bifenyle może prowadzić do urodzenia dziecka z zaburzeniami psychomotorycznymi [7, 29, 32, 33, 34]. Główną konsekwencją ekspozycji mężczyzn na ksenoestrogeny może być postępująca demaskulinizacja oraz feminizacja i w efekcie problemy związane z impotencją oraz zaburzeniami libido czy funkcji jąder [11]. Niezależnie od płci ksenoestrogeny mogą osłabiać układ odpornościowy poprzez wpływ na syntezę immunoglobulin, cytokin oraz mediatorów komórkowego stanu zapalnego, a także poprzez zahamowanie działania komórek układu immunologicznego. Przyczyniają się również do rozwoju cukrzycy typu 1 [7, 35].

Główne źródła ekspozycji na metaloestrogeny i związki chromu

Wśród związków wykazujących zdolność oddziaływania z ERs, pomimo struktury niesteroidowej, jony metali zajmują główne miejsce, z uwagi na ich powszechne występowanie w środowisku życia człowieka. Do metaloestrogenów zalicza się między innymi jony chromu, kadmu, kobaltu, miedzi, niklu, ołowiu, rtęci, wanadu i arsenu [3, 29]. Uwagę zwraca również fakt zanieczyszczeń środowiskowych. Dane z piśmiennictwa wskazują, że współcześnie populację ludzi zamieszkujących zwłaszcza tereny zurbanizowane i uprzemysłowione, mimo obowiązujących regulacji prawnych, narażone są na znaczną ekspozycję na metale ciężkie, które mogą być obecne w wodzie i glebie (np. Cr, Hg, Cu – 1–800 µg/litr oraz 40–459 mg/kg), w rybach (np. Ni, Cr, Hg, Pb, Cu – 81–328 mg/g), w zbożach (np. Cu – 1–14 µg/g), w powietrzu i dymie papierosowym (np. Cd w nerkach u niepalących – 15–20 µg/g, u palaczy – 30–40 µg/g) [3, 7].

Źródła ekspozycji na chrom można podzielić na dwie grupy: ekspozycję zawodową oraz niezwiązaną z narażeniem zawodowym – ekspozycją środowiskową. Do niedawna uważano, że znacznie poważniejsze zagrożenie dla zdrowia stanowi ekspozycja zawodowa, ponieważ pracownicy mogą być narażeni na dużo wyższe stężenia związków chromu niż osoby niezwiązane z jego wykorzystaniem przemysłowym. Zawodowa ekspozycja na chrom dotyczy wielu gałęzi przemysłu, m.in. metalurgicznego, hutniczego, ceramicznego, farbiarskiego, drukarskiego, garbarskiego, i jest regulowana odrębnymi przepisami. Oceniając zależność między stężeniem związków chromu w miejscu pracy a jego stężeniem w moczu pracownika, stwierdzono korelację pomiędzy obecnym w powietrzu Cr(VI) a podwyższonym stężeniem β₂-mikroglobuliny w moczu, jako wskaźnika funkcji

nerek [36]. Niezależnie od ekspozycji przemysłowej pierwiastek ten obecny jest w wielu produktach codziennego użytku, na przykład w barwnikach i farbach, skórze garbowanej, środkach antykorozyjnych czy klejach. Kolejnym źródłem chromu dla człowieka jest również pożywienie. Zarówno produkty pochodzenia zwierzęcego, jak i te pochodzenia roślinnego mogą zawierać ten pierwiastek. Może być on składnikiem naturalnie występującym w danym produkcie lub stanowić zanieczyszczenie pochodzące z obróbki przemysłowej [37].

Działanie chromu jako zaburzacza endokrynnego nabiera coraz większego znaczenia, co wynika nie tylko ze wspomnianej ekspozycji zawodowej i środowiskowej na chrom heksawalentny [Cr(VI)], ale przede wszystkim z uwagi na fakt ogromnej popularności chromu trivalentnego [Cr(III)] przyjmowanego w postaci suplementów diety czy jako składnik preparatów wielowitaminowych. Są one szczególnie często i chętnie kupowane dla regulacji stężenia glukozy czy też w celach odchudzających, dla obniżenia wagi, choć dostępne dane nie są jednoznaczne. Jest to istotne w aspekcie obserwowanego wzrostu liczby kupowanych i zażywanych preparatów zawierających chrom, których rodzaj i postać dostępna na polskim rynku farmaceutycznym stale wzrasta [7, 38, 39, 40]. Uwagę zwraca również lawinowy wzrost liczby preparatów zawierających chrom dla sportowców, szczególnie chętnie kupowanych przez osoby uprawiające sporty wysiłkowe, u których przyjmowanie preparatów zawierających chrom ma prowadzić do zmniejszenia masy ciała i zbudowania beztłuszczowej masy ciała. Są one dostępne w sprzedaży pozaaptecznej, w siłowniach, klubach fitness i sprzedaży internetowej, jednak brak jest szczegółowych danych na ten temat. Wytwórcy takich produktów podkreślają korzystne działanie na gospodarkę węglowodanową i tłuszczową w związku z obecnym w składzie dobrze przyswajalnym związkiem Cr(III) – pikolinianem chromu (CrPic) [38, 41]. Badania przeprowadzone u osób przyjmujących suplementy zawierające CrPi nie przyniosły jednak wystarczających dowodów na regulujące gospodarkę węglowodanowo-lipidową efekty ich działania. Również badania na zwierzętach, którym podawano CrPic, nie potwierdziły wpływu suplementacji na masę ciała, a wręcz ujawniły działania niepożądane. Stwierdzono znaczny wzrost aktywności aminotransferazy asparaginowej i alaninowej w surowicy krwi czy wzrost tkankowej akumulacji chromu w nerkach i wątrobie. Ponadto, udowodniono wpływ CrPic na zwiększenie syntezy rodnika hydroksylowego, który uszkadza materiał genetyczny komórek. Stwierdzono także tendencję do gromadzenia się jonów chromu trivalentnego w organizmie, co pociąga za sobą znaczne ryzyko wystąpienia odległych efektów cytotoksycznych,

mutagennych i genotoksycznych. Wykazano, że CrPic działa mutagennie w komórkach bakteryjnych i ssaczych *in vitro* [42, 43, 44]. W oparciu o analizę dostępnych danych, amerykańska Agencja Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*, FDA) uznała działanie CrPic za „wysoce niepewne”. Obecnie znacznie większą „popularnością” cieszą się suplementy diety z chlorkiem chromu (III) lub kompleksem chrom-niacyna [39, 43, 45, 46].

Działanie chromu jako metaloestrogenu

Metalostrogeny mając zdolność do oddziaływania z wewnątrzkomórkowymi ERs mogą modułować ekspresję genów kodujących różne białka, jednak ich tzw. względny potencjał estrogenowy jest różny. Określono go wyznaczając stosunek EC_{50} (ang. *median effective concentration*) estradiolu do EC_{50} wybranego jonu metalu, przy czym za referencyjny przyjęto potencjał estradiolu, dla którego umownie uznano wartość 1 [29, 47]. EC_{50} jest definiowane jako stężenie efektywne badanego związku, powodujące powstanie jakichkolwiek zmian w 50% organizmów doświadczalnych, np. hamowanie procesów biochemicznych czy wzrost komórek. Jako wynik oznaczenia podawane jest też stężenie hamujące w 50% dany proces fizjologiczny (np. aktywność enzymatyczna, bioluminescencja, fotosynteza) w odniesieniu do czasu trwania eksperymentu [48]. Przykładowo, względny potencjał estrogenowy dla jonów chromu wynosi 0,27. Taką samą wartość obliczono dla jonów rtęci i ołowiu, natomiast dla jonów miedzi i wanadu jest on niższy i wynosi odpowiednio 0,20 i 0,27. Nieco wyższy jest dla jonów cyny i kobaltu (odpowiednio 0,28 i 0,29), natomiast najwyższy, porównywalny ze związkiem referencyjnym, stwierdzono dla jonów niklu – wynosi on 1 [29]. Jak wspomniano, chrom jako przedstawiciel metaloestrogenów ma zdolność

specyficznego oddziaływania z ERs zarówno w sposób genomowy, jak i szybszy niegenomowy. Może także powodować uszkodzenia DNA, co związane jest z tworzeniem adduktów Cr-DNA oraz pęknięciami nici DNA. Schematycznie mechanizm tego działania przedstawiono na **rycynie 3**.

Oprócz znanej i charakterystycznej dla XEs/MES przedstawionej powyżej drogi działania chromu, wskazuje się również na inny, równie istotny mechanizm jego niekorzystnego działania związany z indukowaniem stresu oksydacyjnego. Dane z piśmiennictwa wskazują, że podczas wewnątrzkomórkowej redukcji Cr(VI) dochodzi do równoległego powstawania rodnika hydroksylowego oraz anionorodnika ponadtlenkowego. Jak wiadomo, w warunkach fizjologicznych brak jest możliwości utlenienia postaci triwalentnej chromu do heksawalentnej, jednak chrom triwalentny może przechodzić do bardziej labilnych, wyższych form utlenienia, czyli Cr(IV) i Cr(V) oraz stabilnego Cr(VI). Natomiast proces odwrotny, redukcji Cr(VI) do Cr(III), zachodzi w wielu tkankach organizmu, w trakcie którego może powstawać wiele produktów pośrednich, m.in. Cr(V) oraz Cr(IV), a także wolne rodniki tlenowe (WRT) i reaktywne formy tlenu (RFT), jak np. wzrost wytwarzania anionorodnika ponadtlenkowego, rodnika hydroksylowego czy nadtlenku wodoru, mogących uszkadzać struktury komórkowe [50, 51, 52]. Kontakt organizmu ludzkiego ze związkami chromu na różnych stopniach utlenienia jest możliwy np. w przemyśle, gdzie pracownik może być ekspozowany na związki chromu właśnie na różnym stopniu utlenienia, powstające w trakcie różnych procesów chemicznych towarzyszących produkcji przemysłowej. W środowisku mogą być obecne związki chromu (II), ale są one bardzo nietrwałe i szybko ulegają utlenieniu do związków chromu (III), które są najtrwalszą postacią tego pierwiastka. Natomiast chrom (VI) w postaci chromianów i dichromianów

Rycina 3.
Mechanizm oddziaływania chromu na uszkodzenia DNA w komórkach [49].

Figure 3.
Mechanism of chromium effect on DNA damage in cells [49].

Rycina 4. Udział chromu (VI) w indukowaniu stresu oksydacyjnego w komórkach [49].

Figure 4. The participation of chromium (VI) in the induction of oxidative stress in cells [49].

został uznany za czynnik rakotwórczy i mutageny. Jego niekorzystne działanie jest poznane i udokumentowane, gdyż został on umieszczony na liście Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (ang. *International Agency for Research on Cancer*, IARC) jako pierwiastek o udowodnionym działaniu rakotwórczym na organizm człowieka [53, 54, 55]. Jednak ostatnio coraz więcej uwagi kieruje się na fakt, że toksyczne i mutagenne działanie chromu dotyczy nie tylko pierwiastka na wyższych stopniach utlenienia, tzn. Cr(VI) czy Cr(V), ale jest właśnie również wskazywane dla Cr(III), a także prawdopodobnie dla Cr(II), właśnie poprzez udział w wytwarzaniu RFT i WRT. Natomiast niekorzystne działanie Cr(III) jako metaloestrogenu wiąże się z jego oddziaływaniem z DNA komórek, właśnie poprzez ERs, ale także indukowanie OS związane z nadmiernym wytwarzaniem WRT i RTF [56, 57].

Mechanizmy syntezy RFT/WRT w reakcjach prowadzących do redukcji związków heksawalentnego chromu są złożone. Postuluje się szereg możliwych reakcji, które przyczyniają się do wzrostu stężenia nadtlenu wodoru, anionorodnika ponadtlenkowego czy rodnika hydroksylowego. Pierwszą z nich jest reakcja Cr(VI) z glutationem (GSH), prowadząca do powstania rodnika tiolowego glutationu, który reagując następnie z innymi związkami tiolowymi, może generować anionorodnik ponadtlenkowy. Innym szlakiem przemiany prowadzącej do powstawania RFT jest zależna od Cr(VI) reakcja Habera-Weissa z powstaniem anionorodnika ponadtlenkowego i rodnika hydroksylowego. Anionorodnik ponadtlenkowy może także powstawać podczas reakcji Cr(VI) i Cr(V) zachodzącej według mechanizmu podobnego do mechanizmu reakcji Fentona [49, 58]. Jednocześnie wykazano, że dodatek związku managanu (II) [Mn(II)] działa ochronnie na uszkodzenia struktury DNA w komórkach ekspozowanych na związki chromu. Mn(II) ma zdolność wypierania jonów chromu i hamowania Cr(VI)-zależnej reakcji Fentona, co powoduje redukcję uszkodzeń materiału genetycznego. Natomiast wzrost stężenia anionorodnika ponadtlenkowego w narażonych komórkach skutkuje zmianami w strukturze zasad azotowych DNA [58]. W innych badaniach przeprowadzonych *in vitro* i *in vivo* zaobserwowano, że w wyniku ekspozycji zarówno na chrom

triwalentny, jak i heksawalentny dochodziło do uszkodzeń oksydacyjnych DNA, jak i do wzrostu adduktów DNA, jednak większy stopień uszkodzenia zaobserwowano dla chromu heksawalentnego. Potwierdza to większy potencjał toksyczny związków Cr(VI), jednocześnie wskazując, że związki Cr(III) również nie są go pozbawione [51]. Na **rycynie 4** przedstawiono schematycznie rolę chromu(VI) w indukowaniu stresu oksydacyjnego w komórkach.

Podsumowanie

Chrom jest pierwiastkiem szeroko rozpowszechnionym w środowisku. Oprócz ekspozycji zawodowej, narażenie na związki chromu związane jest także z powszechnym ich użyciem w postaci suplementów diety. Ekspozycja przemysłowa dotyczy przede wszystkim chromu heksawalentnego Cr(VI), uznanego przez IARC za czynnik rakotwórczy dla ludzi. Natomiast chrom triwalentny Cr(III) w postaci organicznych i nieorganicznych soli, jest szeroko rozpowszechniony na rynku suplementów diety w Polsce. Znanych jest kilka mechanizmów działania chromu i innych metaloestrogenów powodujących zaburzenia endokrynne. Jednym z najważniejszych jest działanie estrogenowe związane głównie z wypieraniem jonów cynku ze struktury palca cynkowego w ERs. Chrom jako metaloestrogen może powodować również zaburzenia hormonalne pośrednio poprzez indukcję stresu oksydacyjnego lub powodowanie bezpośrednich uszkodzeń DNA. Działania te dotyczą zarówno trój-, jak i sześciowartościowego chromu. Udowodniony został wpływ ekspozycji na chrom z występowaniem chorób, takich jak: nowotwory piersi, endometrium, niepłodność u kobiet i mężczyzn oraz nowotwory prostaty. Potrzebne są jednak dalsze badania, aby poznać dokładny mechanizm działania chromu jako metaloestrogenu w zaburzeniach endokrynnych.

Otrzymano: 2019.07.24 · Zaakceptowano: 2019.07.30

Piśmiennictwo

1. Farma E., Szymczyk A., Krześlak A.: Wybrane ksenoestrogeny i ich wpływ na zdrowie człowieka [Selected xenoestrogens and their impact on human health]. *Folia Medica Lodziensia* 2013, 40(1): 79–97.

2. Tomczyńska M., Saluk J., Sawicka E.: Estrogenne działanie kadmu i glinu. *Probl Hig Epidemiol.* 2016, 97(1): 1–5.
3. Langauer-Lewowicka H., Pawlas K.: Związki endokrynnie czynne – prawdopodobieństwo niepożądanego działania środowiskowego. *Environ Med.* 2015, 18(1): 7–11.
4. Monneret C.: What is an endocrine disruptor? *C R R Biologies.* 2017, 340(9–10): 403–405.
5. Acconcia F., Fiocchetti M., Marino M.: Xenoestrogen regulation of ERα/ERβ balance in hormone-associated cancers. *Mol Cell Endocrinol.* 2017, Dec 5, 457: 3–12.
6. Jefferson W.N., Patisaul H.B., Williams C.J.: Reproductive consequences of developmental phytoestrogen exposure. *Reproduction* 2012, 143(3): 247–260.
7. Woźniak M., Murias M.: Ksenoestrogeny: substancje zakłócające funkcjonowanie układu hormonalnego. *Ginekol Pol.* 2008, 79: 785–790.
8. Matejczyk M., Zalewski P.: Związki endokrynnie aktywne i ich aktywność biologiczna. *Kosmos* 2011, 1–2(290–291): 17–32.
9. Paterni I., Granchi C., Minutolo F.: Risks and benefits related to alimentary exposure to xenoestrogens. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017, 57(16): 3384–3404.
10. Wetherill Y.B., Fisher N.L., Staubach A., Danielsen M., de Vere White R.W., Knudsen K.E.: Xenoestrogen action in prostate cancer: pleiotropic effects dependent on androgen receptor status. *Cancer Res.* 2005, 65(1): 54–65.
11. Delbes G., Levacher C., Habert R.: Estrogen effects on fetal and neonatal testicular development. *Reproduction* 2006, 132(4): 527–538.
12. Chighizola C., Meroni P.L.: The role of environmental estrogens and autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2012, 11(6–7): A493–501.
13. Cyran M.: Wpływ środowiskowego narażenia na rtęć na funkcjonowanie organizmu człowieka. *Medycyna Środowiskowa* 2013, 13: 55–58.
14. Piontek M., Fedyczak Z., Łuszczynska K., Lechów H.: Toksyczność miedzi, cynku oraz kadmu, rtęci i ołowiu dla człowieka, kręgowców i organizmów wodnych. *Uniwersytet Zielonogórski, Zeszyty Naukowe. Inżynieria Środowiska* 2014, 155 (35): 70–83.
15. Kulik-Kupka K., Nowak J., Korzonek-Szlacheta I., Zubelewicz-Szkodzińska B.: Wpływ dysruptorów endokrynnych na funkcje organizmu. *Postępy Hig Med Dosw.* 2017, 71: 1231–1238.
16. Gruber C.J., Gruber D.M., Gruber I.M., Wieser F., Huber J.C.: Anatomy of the estrogen response element. *Trends Endocrinol Metab.* 2004, 15(2): 73–78.
17. Saczko J., Michel O., Chwilkowska A., Sawicka E., Mączyńska J., Kulbacka J.: Estrogen receptors in cell membranes: regulation and signaling. [Transport across natural and modified biological membranes and its implications in physiology and therapy]. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2017, 227: 93–105.
18. Zielniok K., Gajewska M., Motyl T.: Molekularne aspekty działania 17β-estradolu i progesteronu w komórkowych szlakach sygnałowych. *Postępy Hig Med Dosw.* 2014, 68: 777–792.
19. Tkaczyk M., Kalita K.: Receptor estrogenowy β – budowa, regulacja i funkcja. *Post Biochem.* 2001, 47(1): 72–79.
20. Piekarski J.: Receptory estrogenowe i progesteronowe w raku piersi – współczesny stan wiedzy. *Współczesna Onkol.* 2005, 9: 371–379.
21. Silverthorn D.U., Johnson B.R., Ober W.C., Garrison C.W., Silverthorn A.C.: *Human Physiology: An Integrated Approach.* Six Edition. Pearson Education 2013, 215.
22. Sibonga J.D., Lotinun S., Evans G.L., Pribluda V.S., Green S.J., Turner R.T.: Dose response effects of 2-methoxyestradiol on estrogen target tissues in the ovariectomized rat. *Endocrinology* 2003, 144(3): 785–792.
23. Kurokawa A., Azuma K., Mita T., Toyofuku Y., Fujitani Y., Hirose T., Iwabuchi K., Ogawa H., Takeda S., Kawamori R., Watada H.: 2-Methoxyestradiol reduces monocyte adhesion to aortic endothelial cells in ovariectomized rats. *Endocr J.* 2007, 54(6): 1027–1031.
24. Bourghardt J., Bergström G., Krettek A., Sjöberg S., Borén J., Tivesten A.: The endogenous estradiol metabolite 2-methoxyestradiol reduces atherosclerotic lesion formation in female apolipoprotein E-deficient mice. *Endocrinology* 2007, 148(9): 4128–4132.
25. Świtalska M., Strzdała L.: Niegenomowe działanie estrogenów. *Postępy Hig Med Dosw.* 2007, 61: 541–547.
26. Nyca A., Kraszevska O., Ślomeczyńska M., Ciereszko R.: Fitoestrogeny. II. Wewnątrzkomórkowy mechanizm działania w układzie rozrodczym samicy. *Postępy Biol Komorki.* 2007, 34(1): 207–222.
27. Kosela H., Świtaj T., Rutkowski P.: Zastosowanie inhibitorów BRAF i MEK w terapii zaawansowanego czerniaka. *Oncol Clin Pract.* 2011, 7(5): 246–253.
28. Dębska S., Potemski P.: Budowa i funkcja receptorów hormonalnych oraz mechanizm ich współdziałania z receptorami dla czynników wzrostu. *Współczesna Onkol.* 2010, 14: 347–354.
29. Martin M.B., Reiter R., Pham T., Avellanet Y.R., Camara J., Lahm M., Pentecost E., Pratap K., Gilmore B.A., Divekar S., Dagata R.S., Bull J.L., Stoi A.: Estrogen-like activity of metals in MCF-7 breast cancer cells. *Endocrinology* 2003, 144(6): 2425–2436.
30. Eom K.S., Cheong J.S., Lee S.J.: Structural Analyses of Zinc Finger Domains for Specific Interactions with DNA. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2016, 26(12): 2019–2029.
31. Nowakowska J., Rogulski P., Ciura K., Pikul P.: Hormonalna terapia zastępcza – zalety i wady. *Gazeta Farmaceutyczna* 2013, 5: 30–33.
32. Darbre P.D.: Metalloestrogens: an emerging class of inorganic xenoestrogens with potential to add to the oestrogenic burden of the human breast. *J Appl Toxicol.* 2006, 26(3): 191–197.
33. Haney Jr. J.T., Erraguntla N., Sielken Jr. R., Valdez-Flores C.: Development of a cancer-based chronic inhalation reference value for hexavalent chromium based on a nonlinear-threshold carcinogenic assessment. *Regul Toxicol Pharm.* 2012, 64(3): 466–480.
34. Cassandri M., Smirnov A., Novelli F., Pitolli C., Agostini M., Malewicz M., Melino G., Raschella G.: Zinc-finger proteins in health and disease. *Cell Death Discov.* 2017, 13(3): 17071.
35. Howard S.G.: Developmental Exposure to Endocrine Disrupting Chemicals and Type 1 Diabetes Mellitus; *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018, 3(9): 513.
36. Antonowicz-Juchniewicz J., Jodkowska A., Kwiecieńska D.: Nefropatie wtórne w praktyce lekarza medycyny pracy. I. Nefropatie wtórne w przebiegu narażenia zawodowego. *Medycyna Pracy* 2006, 57(4): 389–400.
37. Levina A., Lay P.A.: Chemical Properties and Toxicity of Chromium(III) Nutritional Supplements. *Chem Res Toxicol.* 2008, 21(3): 563–571.
38. Pittler M.H., Ernst E.: Dietary supplements for body-weight reduction: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2004, 79(4): 529–536.
39. Jurkowska K., Sawicka E., Piwowar A.: Chrom – pierwiastek już dobrze znany czy wciąż nieznany – dwa oblicza działania. *Farm Pol.* 2019, 75(4): 208–218.
40. Maleki V., Izadi A., Farsad-Naeimi A., Alizadeh M.: Chromium supplementation does not improve weight loss or metabolic and hormonal variables in patients with polycystic ovary syndrome: A systematic review. *Nutr Res.* 2018, 56: 1–10.
41. Tian H., Guo X., Wang X., He Z., Sun R., Ge S., Zhang Z.: Chromium picolinate supplementation for overweight or obese adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013, 29(11): CD010063.
42. Yoshida M., Hatakeyama E., Hosomi R., Kanda S., Nishiyama T., Fukunaga K.: Tissue accumulation and urinary excretion of chromium in rats fed diets containing graded levels of chromium chloride or chromium picolinate. *J Toxicol Sci.* 2010, 35(4): 485–491.
43. Golubnitschaja O., Yeghiazaryan K.: Opinion controversy to chromium picolinate therapy's safety and efficacy: ignoring 'anecdotes' of case reports or recognising individual risks and new guidelines urgency to introduce innovation by predictive diagnostics? *EPMA J.* 2012, 3(1): 11.
44. Król E., Krejpcio Z., Iwanik K.: Supplementary chromium(III) propionate complex does not protect against insulin resistance in high-fat-fed rats. *Biol Trace Elem Res.* 2014, 157(2): 147–155.
45. Toxicological Profile for Chromium. U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta. September 2012.
46. Vincent J.B., Love S.T.: The need for combined inorganic, biochemical, and nutritional studies of chromium (III). *Chem Biodivers.* 2012, 9(9): 1923–1941.
47. Florea A.M., Büsselberg D.: Metals and breast cancer: risk factors or healing agents? *J Toxicol.* 2011, 2011: 159619.
48. Kozak J., Włodarczyk-Makula M.: Ogólna charakterystyka metod biologicznej kontroli jakości środowiska. *LAB Laboratoria, Aparatura, Badania* 2016, 21(6): 22–27.
49. Jomova K., Valko M.: Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 2011, 283(2–3): 65–87.
50. Borthiry G.R., Antholine W.E., Kalyanamaran B., Myers J.M., Myers C.R.: Reduction of hexavalent chromium by human cytochrome b5: Generation of hydroxyl radical and superoxide. *Free Radic Biol Med.* 2007, 42(6): 738–755.
51. Goulart M., Batoreu M.C., Rodrigues A.S., Laires A., Rueff J.: Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium exposed workers. *Mutagenesis.* 2005, 20(5): 311–315.
52. Rembacz K.P., Sawicka E., Długosz A.: Role of estradiol in chromium-induced oxidative stress. *Acta Pol Pharm.* 2012, 69(6): 1372–1379.
53. International Agency for Research on Cancer IARC. <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications-volumes/> (dostęp: 28.06.2019).
54. Surgiewicz J.: Chrom i jego związki – metoda oznaczania. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 2009, 1(59): 113–118.
55. Pierzak M.: Chromium and its role in the human body including the antidiabetic action. *J Educ Health Sport* 2018, 8(9): 1740–1746.
56. Chaudhary S., Pinkston J., Rabile M.M., Van Horn J.D.: Unusual reactivity in a commercial chromium supplement compared to baseline DNA cleavage with synthetic chromium complexes. *J Inorg Biochem.* 2005, 99(3): 787–794.
57. Chaudhary S., Van Horn J.D.: Breakdown kinetics of the tri-chromium(III) oxo acetate cluster $[(Cr_3O(OAc)_6)]^+$ with some ligands of biological interest. *J Inorg Biochem.* 2007, 101(2): 329–335.
58. Ding M., Shi X.: Molecular mechanisms of Cr(VI)-induced carcinogenesis. *Mol Cell Biochem.* 2002, 234(1): 293–300.