

ZASTOSOWANIE HODOWLI *IN VITRO* KOMÓREK LUDZKICH W BADANIACH PESTYCYDÓW

Agata JABŁOŃSKA-TRYPUĆ*, Elżbieta WOLEJKO,
Urszula WYDRO, Andrzej BUTAREWICZ

Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Politechnika Białostocka, ul. Wiejska 45A, 15-351 Białystok

Streszczenie: W celu zapewnienia zasobów żywności dla rosnącej populacji ludzkiej, powszechnie stosowane są środki ochrony roślin (ś.o.r.) zabezpieczające rośliny przed chorobami wirusowymi, bakteryjnymi, grzybowymi i szkodnikami oraz preparaty stymulujące ich wzrost i rozwój, zwane pestycydami. Celem pracy jest przedstawienie przeglądu literatury na temat sposobu działania ich substancji czynnych (s.cz.) oraz wpływu jaki wywierają na organizm człowieka na poziomie komórkowym. Obecnie powszechnie wykorzystywanym modelem badawczym są hodowle *in vitro* ludzkich linii komórkowych. Odpowiednio dobrane do eksperymentu linie komórkowe pozwalają na badanie absorpcji różnych substancji chemicznych, w tym pestycydów, poprzez nabłonek układu pokarmowego, oddechowego i skórę. Umożliwiają one ocenę wpływu pestycydów na podstawowe parametry stresu oksydacyjnego oraz funkcjonowanie układu hormonalnego na poziomie molekularnym.

Słowa kluczowe: pestycydy, linie komórkowe, stres oksydacyjny, układ hormonalny.

1. Wprowadzenie

Jednym z największych problemów współczesnej gospodarki jest zapewnienie odpowiednich zasobów żywności dla stale zwiększającej się populacji ludzkiej. Ograniczenie terenów uprawnych wymusza zwiększenie wydajności produkcji, a co za tym idzie częstsze i powszechniejsze stosowanie środków ochrony roślin (ś.o.r.) zabezpieczających rośliny przed chorobami wirusowymi, bakteryjnymi i grzybowymi oraz szkodnikami a także stymulujących ich wzrost i rozwój. Środki ochrony roślin powszechnie funkcjonują pod nazwą pestycydów, a definiowane są jako pojedyncze substancje czynne lub mieszaniny związków chemicznych. Według Zhang i in. (2011) pestycydy powinny wykazywać skuteczność zwalczanych organizmów przy jednoczesnym zachowaniu wysokiego poziomu bezpieczeństwa w stosunku do pozostałych organizmów i środowiska ich bytowania. Konsekwencją wpływu pestycydów na wzrost i rozwój organizmów żywych są zaburzenia w funkcjonowaniu całych ekosystemów a także poważne problemy związane ze zdrowiem, zarówno zwierząt jak i ludzi (Keikotlhaile i in., 2010; Dévier i in., 2011).

Obecność pestycydów w organizmie ludzkim jest spowodowana ich powszechnym stosowaniem w rolnictwie. Ze względu na trwałość i odporność na rozkład, ich pozostałości mogą być wykrywane w wielu

gatunkach roślin. Dlatego też, ludzie poprzez konsumpcję owoców i warzyw są dużo bardziej narażeni na ekspozycję na różne rodzaje pestycydów. Poza absorpcją w układzie pokarmowym, mogą one wnikać do organizmu ludzkiego przez drogi oddechowe i skórę. Te dwie drogi wnikania pestycydów do organizmu człowieka są niezwykle istotne dla osób, które pracują z pestycydami i są bezpośrednio narażone na ich działanie w czasie mieszania preparatów, napełniania sprzętu służącego do oprysków oraz podczas opryskiwania upraw. (Shadnia i in., 2005). Najwięksi producenci i użytkownicy pestycydów to Chiny, USA, Brazylia, Francja i Japonia (Zhang i in., 2011).

Biorąc pod uwagę zastosowanie pestycydów można podzielić je na kilka grup, główne to: insektycydy – substancje owadobójcze; herbicydy – związki chwastobójcze; fungicydy – preparaty grzybobójcze. Natomiast pod względem budowy chemicznej wyróżnić można związki nieorganiczne i organiczne. Pestycydy nieorganiczne stanowią nieliczną grupę związków do której należą między innymi herbicydy zawierające w swoim składzie substancje aktywne takie jak: amidosulfonian amonu, boraks, chloran sodu, a także fungicydy zawierające zasadowy chlorek miedzi (II) oraz ciecz bordowską jako substancje aktywne. Z kolei pestycydy organiczne to bardzo duża grupa około tysiąca związków czynnych charakteryzujących się różną strukturą chemiczną i właściwościami. Według Wrzosek

* Autor odpowiedzialny za korespondencję. E-mail: a.jablonska@pb.edu.pl

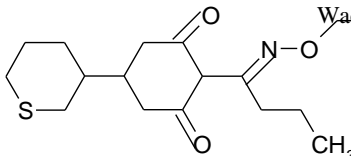
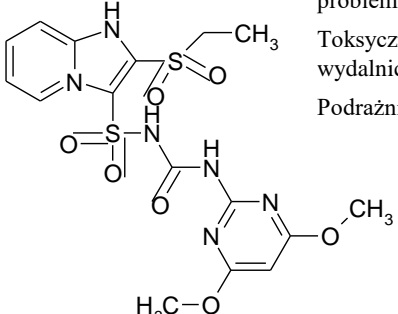
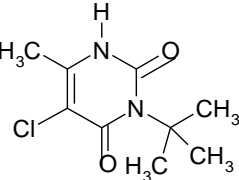
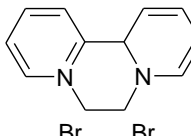
i in. (2009) niezwykle ważnym kryterium podziału tych związków jest ich trwałość w środowisku i rozpuszczalność w wodzie.

2. Charakterystyka i sposób działania wybranych herbicydów

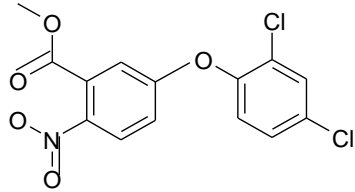
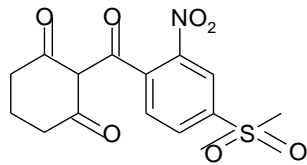
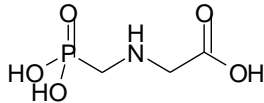
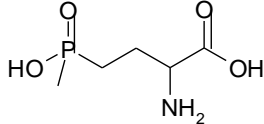
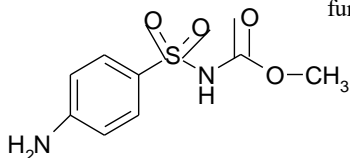
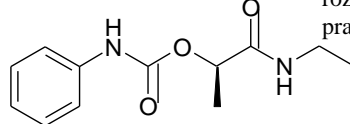
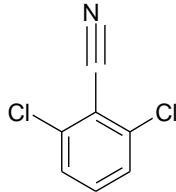
Herbicydy są najpowszechniej stosowaną grupą środków ochrony roślin w rolnictwie w celu regulacji zachwaszczenia, zapewniającą optimum wzrostu i rozwoju dla upraw. Odpowiednio stosowane herbicydy pozwalają osiągnąć wysoką wydajność upraw wskutek eliminacji szerokiego spektrum gatunków chwastów bez wyrządzania szkody roślinom uprawnym (Coble, 1996). W latach osiemdziesiątych dwudziestego wieku w wielu krajach, gdzie obserwowano intensywny rozwój gospodarstw rolniczych, pojawił się trend rozsądnego stosowania pestycydów, zwłaszcza herbicydów. Wynikiem tych działań była polityka proekologiczna

promowana w krajach Unii Europejskiej i Stanach Zjednoczonych, powiązana z nową strategią ochrony upraw, która określała redukcję dawek i częstotliwości użycia substancji chemicznych do niezbędnego minimum (Baandrup i Ballegaard, 1989). Redukcja zużycia herbicydów miała ogromne ekonomiczne i środowiskowe konsekwencje dla rozwoju rolnictwa, ponieważ ocena chwastów pod względem ich oporności na herbicydy wiązała się ze skomplikowanymi i drogimi procedurami (Paraviz i Saiema, 2014). W celu zwrócenia szczególnej uwagi na skutki stosowania herbicydów organizacja HRAC (*Herbicide Resistance Action Committee*) zaproponowała ich klasyfikację bazującą na celu działania herbicydów, efektach, podobieństwach powodowanych symptomów oraz strukturze chemicznej. Proponowany podział wraz z krótkim opisem toksykologicznym prezentuje tabela 1.

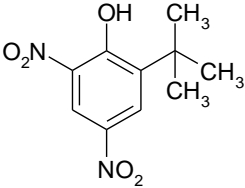
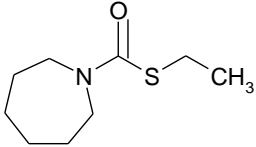
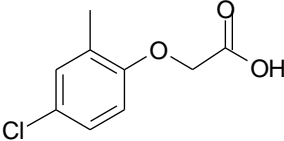
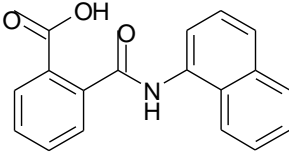
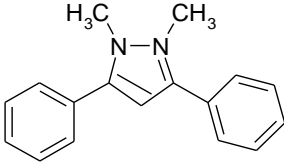
Tab. 1. Klasyfikacja herbicydów i właściwości toksykologiczne wybranych związków

Symbol grupy	Miejsce działania w komórce	Grupa chemiczna	Substancja czynna herbicydu	Działanie toksykologiczne
A	inhibicja acetylokarboksylazy CoA	Cykloheksadiony	Cykloksydym 	Podrażnienia skóry i oczu Wady rozwojowe
B	inhibicja syntazy acetomleczanowej ALS	Sulfonilomocznik	Sulfosulfuron 	Może powodować utratę wagi, problem z pęcherzem i nerkami. Toksyczny dla całego układu wydalniczego Podrażnienia oczu
C	inhibicja fotosyntezy	Uracyl	Terbacil 	Podrażnia układ oddechowy; podrażnia skórę i oczy; duże dawki powodują blednięcie i przyspieszony oddech
D	zaburzenia przepływu elektronów w fotosystemie I	Bipyridylium	Parakwat 	

c.d. Tab. 1.

Symbol grupy	Miejsce działania w komórce	Grupa chemiczna	Substancja czynna herbicydu	Działanie toksykologiczne
E	inhibicja oksydazy protoporfirynogen u	Difenyleter	Bifenoks 	Średnio toksyczny; brak danych
F	wybielenie	Triketon	Mezotrion 	Neurotoksyczny, podrażnia skórę i oczy; powoduje uszkodzenia i zmętnienie rogówki
G	inhibicja syntazy EPSP	Glicyna	Glifosat 	Karcinogen typu 2A; toksyczny dla wątroby i pęcherza moczowego; podrażnia oczy i skórę; może powodować poważne uszkodzenia oczu
H	inhibicja syntazy glutaminianowej	Kwas fosfinowy	Glufosynat amonowy 	Wpływ na procesy rozwoju i reprodukcji; neurotoksyczny; szkodliwy jeżeli zostanie połknięty, zainhalowany lub zaabsorbowany przez skórę; możliwe toksyczne działanie na nerki, pęcherz moczowy, krew i płuca
I	inhibicja syntazy DHP	Karbaminiany	Asulam 	Podrażnia skórę i oczy, zaburza funkcjonowanie hormonów
K	inhibicja mitozy	Karbaminiany	Karbetamid 	Możliwy wpływ na procesy rozwoju i reprodukcji; prawdopodobnie karcinogen
L	inhibicja syntezy celulozy wchodzącej w skład ścian komórkowych	Nitryle	Dichlobenyl 	Wpływa na procesy reprodukcji i rozwoju, możliwie toksyczny dla wątroby, nerek, żołądka, przytarczyc; może powodować zapalenie skóry; chroniczna ekspozycja może powodować senność, utratę apetytu i poważne problemy z układem oddechowym

c.d. Tab. 1.

Symbol grupy	Miejsce działania w komórce	Grupa chemiczna	Substancja czynna herbicydu	Działanie toksykologiczne
M	uszkodzenia błon komórkowych	Dinitrofenol	Dinoterb 	Bardzo toksyczny; wpływa na rozwój i reprodukcję
N	inhibicja syntezy lipidów	Tiokarbaminiany	Molinat 	Wpływa na procesy rozwoju i reprodukcji; inhibitor cholinesterazy; neurotoksyczny; podrażnia układ oddechowy, oczy i skórę; po połknięciu powoduje nudności wymioty i biegunkę; po wdychaniu może powodować niewydolność oddechową
O	działa jak kwas indoliloctowy	Kwas fenoksykarboksylowy	MCPA 	Bardzo toksyczny; może powodować niedociśnienie; możliwie toksyczny dla wątroby; podrażnia oczy; możliwy karcinogen
P	inhibicja transpotu auksyn	Phthalamate	Naptalam 	Podrażnia skórę, możliwe działanie toksyczne na wątrobę
Z	Nieznane; Możliwe że różnią się mechanizmem działania nawet w obrębie grupy	Związki pyrazolowe	Difenzokwat 	Średnio toksyczny; może powodować nieodwracalne uszkodzenia oczu

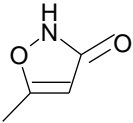
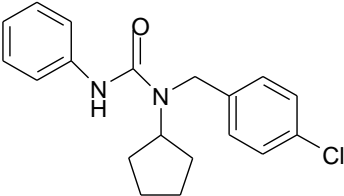
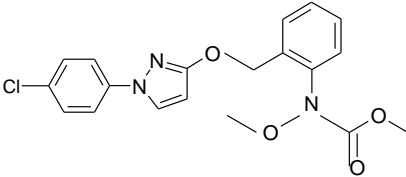
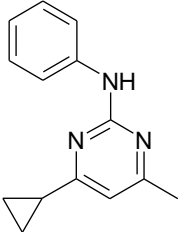
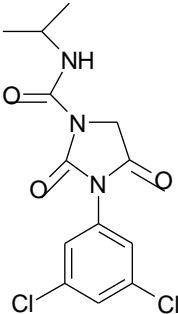
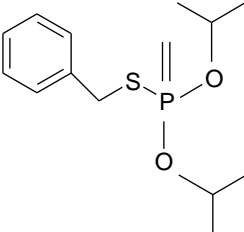
3. Charakterystyka i sposób działania wybranych fungicydów

Jedną z najważniejszych i najpowszechniej stosowanych grup pestycydów są fungicydy dla których prawie połowa światowego zużycia przypada na Europę. Fungicydy są używane w rolnictwie w celu zabezpieczenia roślin uprawnych przed chorobami grzybowymi. Zużycie pestycydów w Europie w 2010 roku obliczone przez Europejskie Stowarzyszenie Ochrony Roślin (ECPA – *European Crop Protection Association*) – organizację, która reprezentuje producentów środków ochrony roślin z 28 europejskich krajów, jest szacowane na więcej niż 100 tysięcy ton (Sułowicz i Piotrowska-Seget, 2016).

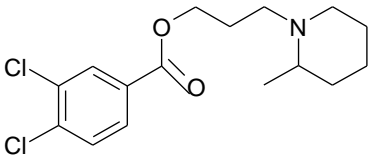
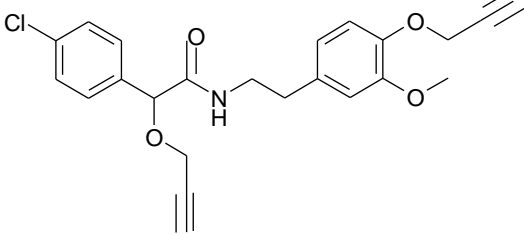
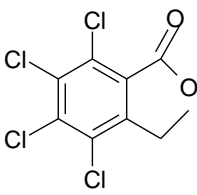
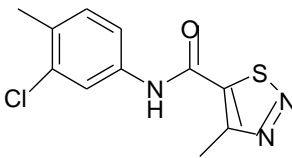
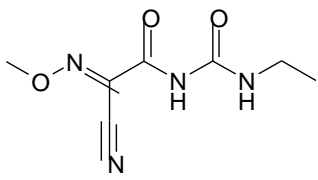
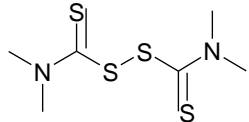
Jest wiele rodzajów klasyfikacji fungicydów. Jednym z kryteriów podziału jest miejsce docelowe działania związku w komórce patogenu grzybowego, innym –

struktura chemiczna składnika grzybobójczego bądź jego toksyczność. W 1981 roku powstała organizacja FRAC (*Fungicide Resistant Action Committee*), której zadaniem jest monitorowanie nowych, odpornych na fungicydy gatunków grzybów. FRAC klasyfikuje fungicydy ze względu na 10 możliwych mechanizmów ich działania. Ta klasyfikacja również bierze pod uwagę aktywne fungicydy z określonymi wieloma celami w komórkach oraz takie, które nie mają zdefiniowanego mechanizmu działania (lista FRAC 2014). Ten podział z uwzględnieniem fungicydów oraz sposobu ich działania z krótką charakterystyką toksykologiczną jest przedstawiony w tabeli 2.

Tab. 2. Klasyfikacja fungicydów i właściwości toksykologiczne wybranych związków

Symbol grupy	Miejsce działania w komórce	Grupa chemiczna	Substancja czynna fungicydu	Działanie toksykologiczne
A	Synteza kwasów nukleinowych	Izoksazole	Hymeksazol 	Bardzo toksyczny; ryzyko poważnych uszkodzeń oczu; toksyczny dla wątroby, tarczycy i nerek
B	Mitoza, podziały komórki, cytoszkielet	Fenylomocznik	Pencykuron 	Podrażnia układ oddechowy
C	Oddychanie	Metoksykarbaminiany	Pyraklostrobina 	Podrażnia skórę
D	Synteza aminokwasów i białek	Anilino-pyrimidyny	Cyprodynil 	Podrażnia układ oddechowy
E	Transdukcja sygnału	Dikarboksyimidy	Iprodion 	Może powodować problem z płucami; toksyczny dla wątroby, nadnerczy, jąder, prostaty i śledziony; hepatotoksyczność stwierdzona u myszy
F	Synteza lipidów, stabilność i integralność błon komórkowych	Fosforotiolany	Iprobenfos (IBP) 	Neurotoksyczny; podrażnia układ oddechowy, skórę i oczy; szkodliwy w przypadku połknięcia

c.d. Tab. 2.

Symbol grupy	Miejsce działania w komórce	Grupa chemiczna	Substancja czynna fungicydu	Działanie toksykologiczne
G	Biosynteza steroidów	Piperydyny	Piperalina 	Podrażnia układ oddechowy, skórę i oczy
H	Biosynteza składników ścian komórkowych	Amidy kwasu migdałowego	Mandipropamid 	Podrażnia skórę; toksyczny dla wątroby
I	Biosynteza melaniny	Izobenzofuranony	Ftalid 	Podrażnia układ oddechowy i oczy
P	Indukcja obrony rośliny żywicielskiej	Tiodiazolokarboksamidy	Tiadinil 	Brak danych
-	Niezany sposób działania	Cjanoacetamidoksymy	Cymoksanil 	Wpływa na rozwój i reprodukcję; uwrażliwia skórę, podrażnia oczy
-	Aktywność kontaktowa wielostronna	Ditiokarbaminiany i ich pochodne	Tiram 	Duże dawki mogą powodować nadpobudliwość, ataksję, duszności i drgawki; karcinogen 3 grupy według IARC; powoduje nadwrażliwość skóry

4. Kultury komórkowe *in vitro* jako nowy model badawczy wpływu pestycydów na organizm człowieka

Mechanizm działania pestycydów w ludzkim organizmie jest związany z zaburzeniami hormonalnymi oraz podwyższeniem poziomu stresu oksydacyjnego. Pestycydy

zostały zidentyfikowane nawet w ludzkim łożysku, gdzie były odpowiedzialne za obniżoną masę urodzeniową dziecka, wpływały hamująco na wzrost płodu wewnątrz macicy oraz powodowały wzrost poziomu stresu oksydacyjnego. U kobiet w ciąży, które miały kontakt z pestycydami zaobserwowano podwyższony poziom peroksydacji lipidów oraz uszkodzenia oksydacyjne DNA

(Rastogi i in., 2009). Wyniki badań prowadzonych na ssakach z użyciem pestycydów, które bezpośrednio łączą toksyczność tych substancji i stres oksydacyjny są bardzo nieliczne. Dlatego też eksperymenty wykorzystujące ludzkie linie komórkowe zyskały dużą popularność jako alternatywa do badań na zwierzętach. Wykorzystując jako model badawczy ludzkie linie komórkowe wykazano zmiany w układzie hormonalnym i zwiększony poziom stresu oksydacyjnego pod wpływem określonych pestycydów.

Kultury komórkowe *in vitro* prowadzone w wyspecjalizowanych laboratoriach stały się głównym, rutynowo stosowanym modelem badawczym w wielu gałęziach biologii i biotechnologii. Ich wykorzystanie w praktyce laboratoryjnej ma wiele zalet, co przedstawiono w tabeli 3. Kultury komórkowe pozwalają na badanie absorpcji związków chemicznych, również pestycydów, przez nabłonek przewodu pokarmowego, nabłonek oddechowy oraz przez inne bariery fizjologiczne żywego organizmu, co jest istotne podczas oceny właściwości biologicznych oraz toksyczności badanego pestycydu. Odpowiednie wyselekcjonowanie linii komórkowej do eksperymentu pozwala na szybkie i precyzyjne uzyskanie wyników wstępnych badań toksykologicznych. Dzięki kulturom komórkowym *in vitro* możliwe jest badanie mechanizmów absorpcji danego związku, określenie minimalnego stężenia toksycznego, interakcje badanego związku z innymi cząsteczkami, oraz wpływ substancji pomocniczych na stopień absorpcji przez bariery biologiczne. Kultury komórkowe prowadzone w warunkach w pełni kontrolowanych pozwalają również na badania przesiewowe („screening”) wielu grup nowo zsyntetyzowanych związków, przy jednoczesnej znaczącej redukcji kosztów jakie generują drogie i czasochłonne badania *in vivo* na zwierzętach, związane również z problemami natury etycznej tych działań. Gwałtowny wzrost rozwoju biotechnologii umożliwił izolację oraz kultywowanie wielu różnych rodzajów linii komórkowych, które wykazują różny stopień podobieństwa do żywych organizmów, czyli w różny

sposób odzwierciedlają warunki *in vivo*. W ten sposób uzyskano narzędzie pozwalające na skrócenie czasu przeznaczonego na eksperymenty. Może to również pomóc w osiąganiu powtarzalnych wyników i zapewnić wysoką ich korelację z warunkami *in vivo*.

Badanie absorpcji pestycydów drogą oddechową powinno wiązać się z zastosowaniem jako modelu badawczego komórek pobranych z nabłonka oddechowego, które bardzo dobrze reprezentują charakterystyczne warunki związane z wchłanianiem substancji na drodze inhalacji. Natomiast podczas analizowania przenikania pestycydów przez skórę należy zastosować dostępne linie komórkowe skóry i ekwiwalentów skóry właściwej oraz naskórka. Te dwie drogi wnikania pestycydów są istotne dla osób związanych zawodowo z rolnictwem, dystrybucją bądź rozprzestrzenianiem pestycydów. Jednakże, większość pestycydów dostaje się do ludzkiego organizmu poprzez układ pokarmowy w trakcie konsumpcji pożywienia. Ta droga wnikania pestycydów do organizmu ludzkiego dotyczy wszystkich, nie tylko osób związanych zawodowo z rolnictwem (Al-Gubory, 2014).

5. Badania stresu oksydacyjnego powodowanego przez pestycydy w wybranych kulturach komórkowych *in vitro*

Jednym ze skutków oddziaływania pestycydów na organizm człowieka jest zwiększanie poziomu stresu oksydacyjnego w komórkach. Stres oksydacyjny jest definiowany jako konsekwencja zwiększonego poziomu wolnych rodników przy jednoczesnej zmniejszonej fizjologicznej ochronie antyoksydacyjnej. Wolne rodniki pod względem struktury chemicznej są molekułami z jednym lub większą ilością niesparowanych elektronów, co powoduje ich dużą niestabilność i wysoką reaktywność, na przykład: nadtlarki, tlenki azotowe czy rodniki peroksyłowe powstające wskutek procesu peroksydacji lipidów (Cochran, 1991). Ze względu na swoją budowę chemiczną i właściwości wykazują one

Tab. 3. Zalety i ograniczenia kultur komórkowych jako modeli badawczych *in vitro* (Forbes, 2000)

Wady i zalety modelu <i>in vitro</i> kultur komórkowych w badaniu transportu chemicznego i metabolizmu	
Zalety	Wady
1. ilość związku wymaganego do badania jest znacząco mniejsza niż w przypadku modelu zwierzęcego	1. badania na selektywnych typach komórek
2. eliminacja zwierząt eksperymentalnych	2. komórki nowotworowe o nietypowych fenotypach
3. łatwość w użyciu	3. poszczególne komórki nie odzwierciedlają dostatecznie funkcjonowania danej tkanki
4. szybka analiza	4. możliwość wpływu cyklu komórkowego na metabolizm i transport badanych związków
5. oszczędności	
6. możliwość badania transportu międzykomórkowego	
7. możliwość kontroli warunków środowiska (temperatura, pH)	

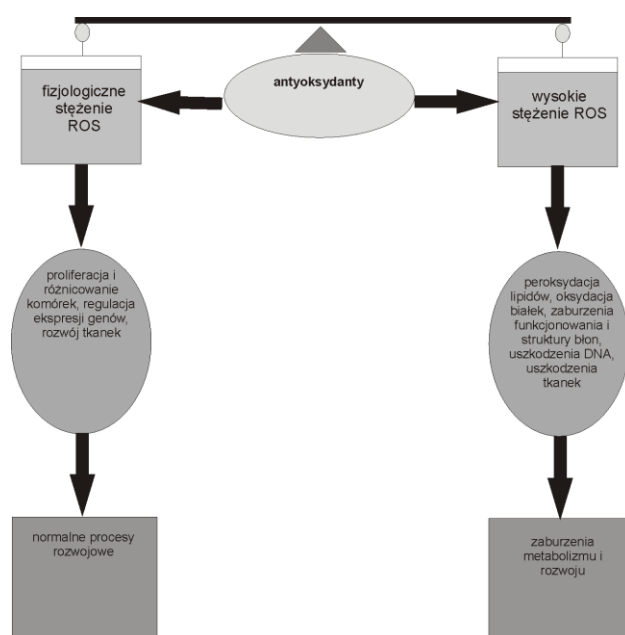
bardzo duże powinowactwo do sąsiadujących cząsteczek, przez co powodują uszkodzenia w strukturze i funkcjonowaniu ważnych makromolekuł takich jak białka, cukry, tłuszcze i kwasy nukleinowe (Halliwell, 1994 a i b). W normalnych, fizjologicznych warunkach jednym ze źródeł wolnych rodników jest poprawnie funkcjonujący metabolizm ludzki. Inne źródła to nadmierna ekspozycja na światło słoneczne, ozon, dym papierosowy, niektóre leki i narkotyki, zanieczyszczenia powietrza, chemikalia przemysłowe oraz pestycydy. Lista przyczyn stresu oksydacyjnego w środowisku jest przedstawiona w tabeli 4.

Tab. 4. Lista przyczyn stresu oksydacyjnego w środowisku (Abdollahi i in., 2004)

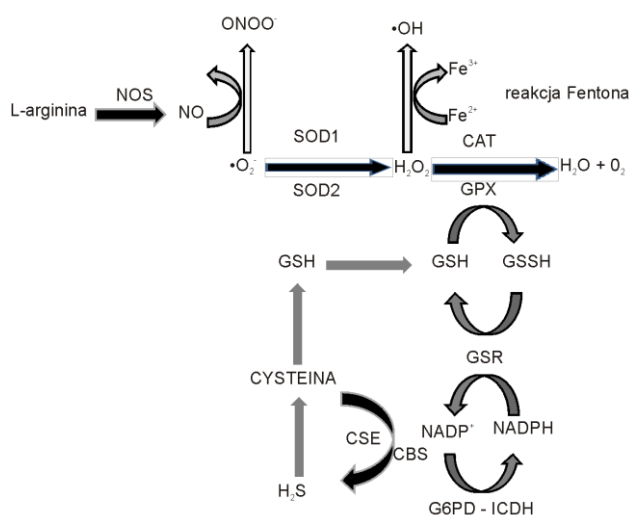
Kategoria czynnika	Rodzaj czynnika
Leki	paracetamol
	dokсорubicyna
	aminotriazole
Jony metali	żelazo
	miedź
	kadm
	nikiel
Zanieczyszczenia	azbest
	polichlorowane difenyle
	parakwat
	dikwat
	dwutlenek azotu
	ozon
Promieniowanie	pył mineralny
	Światło UV
	Promieniowanie rentgenowskie
	Promieniowanie gamma

Jednym z ważniejszych wyzwań ludzkiego organizmu jest uzyskanie równowagi pomiędzy produkcją wolnych rodników, a odpowiednim poziomem bariery antyoksydacyjnej. Stabilność tej równowagi ma ważny wpływ na zdrowie człowieka. Jeśli poziom wolnych rodników jest zbyt wysoki, a antyoksydantów zbyt niski, to rozwijają się warunki stresu oksydacyjnego, co może spowodować poważne i długotrwałe uszkodzenia odgrywające ważną rolę w patofizjologii wielu chorób. W literaturze naukowej są liczne doniesienia potwierdzające bezpośredni związek stresu oksydacyjnego z genezą wielu różnych chorób, takich jak: zmiany neurodegeneracyjne w chorobie Alzheimera, choroba Parkinsona, zaćma, miażdżycy, cukrzyca, chorobowy nowotworowe, chroniczne stany zapalne układu pokarmowego, astma, starzenie się skóry czy innymi chorobami (Butterfield, 2002; Butterfield i Lauderback, 2002; Zarkovic, 2003).

Fizjologiczne stężenie wolnych rodników pozytywnie wpływa na metabolizm komórek poprzez regulację ich ekspresji genów, proliferacji i różnicowania, podczas gdy wysoka koncentracja ROS (reaktywnych form tlenu, ang. *Reactive Oxygen Species*) niszczy komórkowe makromolekuły, co prowadzi do wielu zaburzeń chorobowych i rozwojowych (rys. 1) (Buonocore i in., 2010). Ludzki organizm ma wiele mechanizmów przeciwdziałania uszkodzeniom powodowanym przez stres oksydacyjny, a głównym są czynniki antyoksydacyjne. Antyoksydanty opóźniają lub hamują uszkodzenia oksydacyjne, ponieważ są wystarczające stabilne, aby neutralizować wolne rodniki poprzez przekazywanie im elektronów. Obecnie zostało poznanych i opisanych wiele czynników, które posiadają właściwości antyoksydacyjne, a w ludzkim organizmie można podzielić je na dwie kategorie: enzymatyczne i nieenzymatyczne systemy antyoksydacyjne. Oba te układy chronią struktury komórkowe, ich integralność oraz funkcjonowanie przeciwdziałając uszkodzeniom powodowanym przez ROS poprzez utrzymywanie stężenia wolnych rodników na poziomie fizjologicznym. Grupa enzymatycznych antyoksydantów łączy zawierające miedź i cynk dysmutazy ponadtlenukowe – SOD (ang. *Superoxide Dismutase*) (Cu, Zn-SOD lub SOD1 obecne w cytosolu), zawierającą mangan dysmutazę ponadtlenukową (Mn-SOD lub SOD2 obecna w matrix mitochondrium), katalazę (CAT, obecna w poroksyzomach), zawierającą selen peroksydazę glutationową (Se-GPX, obecna w matrix mitochondrium oraz w cytoplazmie) a także reduktazę glutationową (GSR). Ta ostatnia uważana jest za najważniejszy enzym dla cyklu redoksu GSH (glutationu), który zapewnia odpowiednie stężenie zredukowanego glutationu (rys. 2) (Jezek i Hlavatá, 2005; Schafer i Buettner, 2001; Al-Gubory, 2014).



Rys. 1. Kontrola wytwarzania ROS (Lachance i in., 2001; Goodyear-Bruch i Pierce, 2002; Fuchs i in., 2001)



Rys. 2. Działanie enzymatycznych i nieenzymatycznych antyoksydantów odpowiedzialnych za kontrolę ROS (SOD1-miedziowo-cynkowa dysmutaza ponadtlenkowa, SOD2-manganianowa SOD, GSH-zredukowany glutation, GSSG-utleniony glutation, GSR-reduktaza glutationowa, CAT-katalaza, GPX-peroksydaza glutationowa, CBS- β -syntetaza cystationinowa, CSE- γ -liaza cystationinowa, G6PD-dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa, ICDH-dehydrogenaza izocytrynianu) (Jezek i Hlavatá, 2005; Schafer i Buettner, 2001; Al-Gubory, 2014)

Ekspozycja na pestycydy odgrywa istotną rolę we wzroście poziomu stresu oksydacyjnego i może powodować zwiększoną podatność na choroby. Molekularne mechanizmy działania poszczególnych herbicydów i fungicydów w organizmie człowieka nie są do końca poznane, zwłaszcza jeżeli efekt działania pestycydu jest powodowany przez ekspozycję na dawkę środowiskową. Specyficzne oddziaływania biologiczne zależą od chemicznej struktury pestycydu i powinny być badane na poziomie komórkowym. Uzyskane rezultaty mogą służyć jako wskaźnik ekspozycji na konkretny składnik chemiczny (Gupta, 2012). Zmiany w poszczególnych parametrach stresu oksydacyjnego pojawiające się pod wpływem wybranych pestycydów określane są przy zastosowaniu modeli badawczych ludzkich linii komórkowych. Kimura wraz z zespołem odkryli, że herbicyd znany jako MCPA (kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy) jest transportowany przez membrany komórek Caco-2, które stanowią zaaprobowany model badawczy dla układu pokarmowego. Linia Caco-2 hodowana na przepuszczalnych membranach wykorzystywana jest do badania mechanizmów transportu międzykomórkowego MCPA poprzez jelito cienkie (Kimura i in., 2012). Bukowska i in. (2008) zbadali wpływ dwóch powszechnie stosowanych fenoksyherbicydów – soli sodowej kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctanowego (2,4-D-Na) oraz soli sodowej kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctanowego (MCPA-Na) na zawartość grup karbonylowych w białkach ludzkich erytrocytów. Linia ta została wybrana jako eksperymentalny model badawczy ze względu na swoją prostotę strukturalną i funkcjonalną, która sprawia, że są odpowiednie do badania toksyczności wybranych

ksenobiotyków. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że prooksydacyjne działanie fenoksyherbicydów jest zależne przede wszystkim od lokalizacji podstawnika w pierścieniu fenolowym (Bukowska i in., 2008). Kim i in. (2013) stwierdzili, że parakwat (chlorek 1,1-dimetylo-4,4'-bipirydyniowy), jeden z najbardziej znanych herbicydów, powoduje stres oksydacyjny w komórkach linii BEAS-2B oskrzeli człowieka. Linia BEAS-2B jest powszechnie stosowanym modelem badawczym w analizie patogenezy chorób układu oddechowego wywołanych stresem oksydacyjnym powodowanym przez pestycydy, ponieważ komórki te zostały wyizolowane ze zdrowych ludzkich oskrzeli. Wykazano, że parakwat (PQ) podlega cyklicznej jednoelektronowej redukcji/utlenieniu poprzez azot amonowy oraz pierścień bipirydynyowy. W wyniku tej reakcji powstają wolne rodniki i PQ oraz zmniejszeniu ulega ilość zredukowanych ekwiwalentów NADPH i GSH. Brak danych literaturowych wyjaśniających, w jaki sposób oddziałują sygnały oksydacyjne parakwatu ze ścieżkami transdukcji, które są podstawą odpowiedzi na nie z płuc. Według He i in. (2012) głównym celem parakwatu są mitochondria. PQ powoduje uszkodzenia struktury mitochondrium, które wraz ze zmianami w cyklu redoks są główną przyczyną wzrostu poziomu stresu oksydacyjnego, co w konsekwencji prowadzi do śmierci komórek nabłonka płuc, nadprodukcji profibrogennych cytokin oraz czynników wzrostu, jak również transformacji miofibroblastów. Wyniki badań przeprowadzonych przez He i in. (2012) wskazują, że cytotoxyczność PQ jest zależna od dawki, co jest związane z indukcją apoptozy, a związek ten wykazano poprzez badanie procesu aktywacji kaspaz 3 i 7. Zaobserwowano również znaczący wzrost w produkcji wolnych rodników po ekspozycji komórek linii BEAS-2B na PQ. Stres oksydacyjny oraz uszkodzenia mitochondriów to główne mechanizmy poprzez które PQ powoduje uszkodzenie i zwłóknienie płuc (He i in., 2012). Inne badania przeprowadzone przez Rodriguez-Rocha i in. (2013) potwierdzają, że PQ oraz cyperkwat, pod względem struktury chemicznej bardzo podobny do parakwatu, powodują zanikanie neuronów dopaminergicznych, co jest ściśle związane ze stresem oksydacyjnym. W badaniach przeprowadzonych na ludzkich komórkach dwóch linii neuroblastoma (SK-N-SH i IMR-32), autorzy wykazali, że PQ powoduje szybki wzrost poziomu rodnika ponadtlenkowego w mitochondrium oraz stres oksydacyjny, który z kolei pociąga za sobą wzrost poziomu stresu oksydacyjnego w cytozolu. W przypadku ekspozycji na PQ wykazano, że nadekspresja MnSOD, ale nie CuZnSOD i Mn-zależnych porfiryn, zmniejsza stres oksydacyjny i obumieranie komórek. Natomiast toksyczność i stres oksydacyjny indukowany przez cyperkwat nie powodowały nadekspresji MnSOD i CuZnSOD. Te odkrycia sugerują, że oprócz formowania rodnika ponadtlenkowego, dodatkowe mechanizmy biorą udział w toksycznym działaniu pestycydów spowodowanym przez inhibicję kompleksu mitochondrialnego I (Rodriguez-Rocha i in., 2013).

Wyniki badań przeprowadzonych przez Regueiro i in. (2015) opisują cytotoksyczność indukowaną przez wybrane fungicydy. Według autorów, wszystkie badane fungicydy powodują zmniejszenie żywotności komórek. Badania te zostały przeprowadzone na liniach pierwotnych neuronów uzyskanych z kory mózgowej płodów myszy. Pestycydy powodowały inhibicję mitochondrialnego kompleksu oddechowego III prowadzącą do zatrzymania naturalnego transportu elektronów, zmniejszenia zasobów ATP oraz depolaryzacji błon mitochondriów, co w efekcie powodowało wzrost stężenia wapnia w cytosolu i śmierć komórek (Regueiro i in., 2015). Badania, przeprowadzone przez Coleman i in. (2012) potwierdzają, że wybrane fungicydy wpływają na wydajność redukcyjną komórek oraz na ekspresję niektórych istotnych enzymów antyoksydacyjnych, takich jak peroksydaza glutationowa czy dysmutaza ponadtlenkowa. Wpływ tych fungicydów był badany na komórkach glejowych i neuronach linii U251 oraz SH-SY5Y (Coleman i in., 2012).

6. Pestycydy, jako zanieczyszczenia chemiczne zaburzające gospodarkę hormonalną człowieka

Ekspozycja na różnorodne zanieczyszczenia środowiskowe wpływa na funkcjonowanie całego organizmu ludzkiego. Pojawiające się pod wpływem pestycydów zaburzenia hormonalne powodują zakłócenia w dynamicznej gospodarce hormonalnej we wszystkich tkankach i organach. Kumulacja efektów jest zależna od dawki, a niezależna od mechanizmu oraz sposobu działania poszczególnych składników mieszanki. Mieszaniny związków złożone z wielu chemicznych składników powodujących zaburzenia układu dokrewnego, naśladują działanie hormonów indukując zaburzenia w ścieżkach przemian estrogenu, androgenu i innych hormonów steroidowych. Toksyczność związków zaburzających gospodarkę hormonalną człowieka wynika głównie z antagonistycznego modelu ich działania polegającego na kompetycyjnym wiązaniu się ligandów z receptorem estrogenowym (Rider i in., 2013; Kortenkamp, 2007; Li i in., 2012).

Zmiany w równowadze hormonalnej pod wpływem wybranych pestycydów badano wykorzystując różne linie komórek ludzkich. Bardzo popularnym i wiarygodnym modelem badawczym umożliwiającym analizowanie zaburzeń hormonalnych pojawiających się na skutek działania pestycydów są linie komórkowe raka piersi, takie jak MCF-7 czy MDA-MB-231. Dane literaturowe wskazują, że fungicydy z grupy karbaminianów, na przykład: benomyl hamują proliferację komórek linii MCF-7 poprzez dwa różne mechanizmy: z jednej strony powodują acetylację mikrotubul, a z drugiej zaburzają ich polimeryzację (Rathinasamy i Panda, 2008). Benomyl działa jako związek zaburzający funkcjonowanie układu hormonalnego poprzez zwiększanie ekspresji i aktywności aromatazy w linii komórkowej ludzkiego nowotworu jajnika KGN (Morinaga i in., 2004). Ta aktywność benomyłu zaburzająca prawidłowe funkcjonowanie układu

dokrewnego powodowana przez benomyl została potwierdzona w badaniach na linii komórkowej MCF-7 przeprowadzonych przez Kawaratani i in. (2015), którzy odkryli, że badany fungicyd uszkadza mikrotubule, powoduje apoptozę oraz zwiększa poziom protein, mRNA i aromatazy, stanowiąc czynnik ryzyka zaburzeń hormonalnych związanych z rakiem piersi. Na linii MCF-7 badano również inne związki działające przeciwgrzybiczo, między innymi z grupy konazoli. Okazało się, że wszystkie badane imidazole oraz triazole wykazały w niższych stężeniach znaczący potencjał zaburzania biosyntezy układu hormonalnego. Ich mechanizm działania polega na inhibicji biosyntezy androgenów, szczególnie testosteronu. Jednakże, w linii komórkowej MCF-7 wykazują aktywność anty-estrogenową spowodowaną inhibicją aromatazy – kluczowego enzymu biosyntezy hormonów steroidowych (Kjærstad i in., 2010). Andersen i in. (2006) wykazali, że inny fungicyd – fenarimol wykazuje podwójny efekt, w niższych stężeniach znacząco hamuje aromatazę, a w wyższych ma właściwości estrogenne. W celu zbadania właściwości estrogennych, antiestrogennych oraz działania hamującego aromatazę wykorzystano linię MCF-7. Ponadto Radice i in. (2006) wykryli przy użyciu linii MCF-7 zaburzenie gospodarki hormonalnej działaniem procymidonu – dikarboksymidowego fungicydu. Dalsze badania wykazały, że aktywacja kinaz MAPK (kinazy aktywowane mitogenami ang. *mitogen-activated protein kinases*) jest odpowiedzialna za stymulację receptorów estrogenu poprzez procymidon (Radice i in., 2006). Wyniki badań przeprowadzonych przez Huovinen i in. (2015) wykazały szkodliwy wpływ ekspozycji na diuron, zwłaszcza na rozwój płodu. Test przeprowadzono na komórkach ludzkiego raka sutka (MCF-7) i komórkach ludzkiego nowotworu łożyska kosmówki (BeWo). Wykazały one, że diuron jest wysoce cytotoksyczny i potencjalnie genotoksyczny, a w mechanizm jego działania zaangażowane są wolne rodniki (Huovinen i in., 2015). Wyniki uzyskane przez Rollerova i in. (2014) potwierdzają niszczące działanie wybranych herbicydów, ponieważ wskazują, że acetochlor może interferować ze ścieżką sygnałową estradiolu i tym samym stymuluje proliferację linii MCF-7 (Rollerova i in., 2014). Podczas gdy w eksperymencie przeprowadzonym przez Rich i in. (2012) wskazano na różne efekty cytotoksyczne wybranych herbicydów zależne od użytej do badań linii komórkowej. W estrogenozależnej linii MCF-7 raka nabłonkowego sutka cytotoksyczność spowodowana atrazyną oraz cynazyną nie została zaobserwowana, jednak estrogeniezależna linia komórkowa MDA-MB-231 raka piersi oraz nie pochodząca od komórek raka linia pierwotna MCF-10A wykazały istotny spadek żywotności komórek (Rich i in., 2012).

7. Podsumowanie

Obecnie, ze względu na potrzebę upraw roślin na dużą skalę, pestycydy są integralną częścią życia, przez co stają

się trudne do wyeliminowania z rolnictwa. Człowiek jest narażony na działanie pestycydów ze względu na wnikanie tych związków do organizmu drogą pokarmową, wziewną i skórą. Niektóre ze stosowanych pestycydów mają udowodnione działanie toksyczne, mutagenne i kancerogenne. Badania wpływu pestycydów na organizm człowieka i zwierząt zwykle prowadzone są z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, jednak ze względu na problemy natury etycznej i koszty coraz powszechniejsze są badania *in vitro* bazujące na ludzkich kulturach komórkowych. Przy prawidłowo przeprowadzonych badaniach i odpowiednio dobranych modelach badawczych, kultury komórkowe *in vitro* są dobrym modelem eksperymentalnym, odzwierciedlającym narażenie człowieka na różne ksenobiotyki. Mogą być one również używane do monitorowania ekspozycji na połączone i skumulowane pestycydy. Dzięki dynamicznemu rozwojowi chemii, biologii i biotechnologii oraz medycyny mogą być tworzone jak najmniej toksyczne środki ochrony roślin, a także możliwe jest przewidzenie ich szkodliwego wpływu na funkcjonowanie organizmu człowieka.

Literatura

- Abdollahi M., Ranjbar A., Shadnia S., Nikfar S., Rezaie A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.*, Vol. 10, 6, 141-147.
- Al-Gubory K.H. (2014). Environmental pollutants and lifestyle factors induce oxidative stress and poor prenatal development. *Reprod. Biomed. Online*, Vol. 29, 1, 17-31.
- Andersen H.R., Bonfeld-Jørgensen E.C., Nielsen F., Jarfeldt K., Jayatissa M.N., Vinggaard A.M. (2006). Estrogenic effects in vitro and in vivo of the fungicide fenarimol. *Toxicol. Lett.*, Vol. 163, 2, 142-152.
- Baandrup M., Ballegaard T. (1989). Three years field experience with an advisory computer system applying factor-adjusted doses. *The BCPC Conference – Weeds*, Vol. 2, 555-560.
- Bukowska B., Rychlik B., Krokosz A., Michałowicz J. (2008). Phenoxyherbicides induce production of free radicals in human erythrocytes: oxidation of dichlorodihydrofluoresceine and dihydrorhodamine 123 by 2,4-D-Na and MCPA-Na. *Food Chem Toxicol.*, Vol. 46, 1, 359-367.
- Buonocore G., Perrone S., Tataranno M.L. (2010). Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. *Semin. Fetal Neonatal. Med.*, Vol. 15, 4, 186-190.
- Butterfield D.A. (2002). Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. A review. *Free Radic. Res.*, Vol. 36, 12, 1307-1313.
- Butterfield D.A., Lauderback C.M. (2002). Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, Vol. 32, 11, 1050-1060.
- Coble H.D. (1996). Weed management tools and their impact on the agro-ecosystem. In: *Proc. 2nd International Weed Control Congress*, Copenhagen, Denmark, 1143-1146.
- Cochran C.G. (1991). Cellular injury by oxidants. *Am. J. Med.*, Vol. 92, 235-305.
- Coleman M.D., O'Neil J.D., Woehrling E.K., Ndunge O.B.A., Hill E.J., Menache A., Reiss C.J. (2012). A Preliminary Investigation into the Impact of a Pesticide Combination on Human Neuronal and Glial Cell Lines In Vitro. *PLoS ONE*, Vol. 7, 8, e42768.
- Forbes I.I. (2000). Human airway epithelial cell lines for in vitro drug transport and metabolism studies. *Pharm. Sci. Technol. Today.*, Vol. 3, 1, 18-27.
- Fuchs J., Zollner T.M., Kaufmann R., Podda M. (2001). Redox-modulated pathways in inflammatory skin diseases. *Free Radic. Biol. Med.*, Vol. 30, 4, 337-353.
- Goodyear-Bruch C., Pierce J.D. (2002). Oxidative stress in critically ill patients. *Am. J. Crit. Care.*, Vol. 11, 6, 543-551.
- Gupta P.K. (2012). Toxicity of herbicides. R.C. Gupta (Ed.), *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles* (2nd edn), Academic Press/Elsevier, Amsterdam, 631-652.
- Halliwell B. (1994a). Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, causes and consequences. *Lancet*, Vol. 344, 721-724.
- Halliwell B. (1994b). Free radicals and antioxidants: A personal view. *Naut. Rev.*, Vol. 52, 235-265.
- He X., Wang L., Szklarz G., Bi Y., Ma Q. (2012). Resveratrol inhibits paraquat-induced oxidative stress and fibrogenic response by activating the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 pathway. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, Vol. 342, 1, 81-90.
- Huovinen M., Loikkanen, J., Naarala, J., Vähäkangas, K. (2015). Toxicity of diuron in human cancer cells. *Toxicol. In Vitro.*, Vol. 29, 7, 1577-1586.
- Kawaratani Y., Matsuoka T., Hirata Y., Fukata N., Nagaoka Y., Uesato S. (2015). Influence of the carbamate fungicide benomyl on the gene expression and activity of aromatase in the human breast carcinoma cell line MCF-7. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, Vol. 39, 1, 292-299.
- Keikothlaile B.M., Spanoghe P., Steurbaut W. (2010). Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: a meta-analysis approach. *Food Chem. Toxicol.*, Vol. 48, 1-6.
- Kim Y.S., Podder B., Song H.Y. (2013). Cytoprotective effect of alpha-lipoic acid on paraquat-exposed human bronchial epithelial cells via activation of nuclear factor erythroid related factor-2 pathway. *Biol. Pharm. Bull.*, Vol. 36, 5, 802-811.
- Kimura O., Tsukagoshi K., Hayasaka M., Endo T. (2012). Transepithelial transport of 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA) across human intestinal Caco-2 cell monolayers. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, Vol. 110, 6, 530-536.
- Kjærstad M.B., Taxvig C., Nellemann C., Vinggaard A.M., Andersen H.R. (2010). Endocrine disrupting effects in vitro of conazole antifungals used as pesticides and pharmaceuticals. *Reprod. Toxicol.*, Vol. 30, 4, 573-582.
- Kortenkamp A. (2007). Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. *Environ. Health Perspect.*, Vol. 115 Suppl 1, 98-105.
- Lachance P.A., Nakat Z., Jeong W.S. (2001). Antioxidants: an integrative approach. *Nutrition.*, Vol. 17, 10, 835-838.
- Li Z., Zhang H., Gibson M., Li J. (2012). An evaluation on combination effects of phenolic endocrine disruptors by estrogen receptor binding assay. *Toxicol. In Vitro.*, Vol. 26, 6, 769-774.
- Morinaga H., Yanase T., Nomura M., Okabe T., Goto K., Harada N., Nawata H. (2004). Abenzimidazole fungicide, benomyl, and its metabolite, carbendazim, induce aromatase activity in a human ovarian granulosa-like tumor cell line (KGN). *Endocrinology*, Vol. 145, 1860-1869.

- Paraviz A., Saiema R. (2014). Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance. Volume 1: Biological Techniques, Academic Press, Elsevier, 423-448.
- Radice S., Chiesara E., Frigerio S., Fumagalli R., Parolaro D., Rubino T., Marabini L. (2006). Estrogenic effect of procymidone through activation of MAPK in MCF-7 breast carcinoma cell line. *Life Sci.*, Vol. 78, 23, 2716-223.
- Rastogi S.K., Satyanarayan P.V., Ravishankar D., Tripathi S. (2009). A study on oxidative stress and antioxidant status of agricultural workers exposed to organophosphorus insecticides during spraying. *Indian J. Occup. Environ. Med.*, Vol. 13, 131-134.
- Rathinasamy K., Panda D. (2008). Kinetic stabilization of microtubule dynamic instability by benomyl increases the nuclear transport of p53. *Biochem. Pharmacol.*, Vol. 76, 1669-1680.
- Regueiro J., Olguín N., Simal-Gándara J., Suñol C. (2015). Toxicity evaluation of new agricultural fungicides in primary cultured cortical neurons. *Environ. Res.*, Vol. 140, 37-44.
- Rich J.D., Gabriel S.M., Schultz-Norton J.R. (2012). In vitro effects of herbicides and insecticides on human breast cells. *ISRN Toxicol.*, Vol. 2012, ID 232461, doi: 10.5402/2012/232461.
- Rider C.V., Carlin D.J., Devito M.J., Thompson C.L., Walker N.J. (2013). Mixtures research at NIEHS: an evolving program. *Toxicology.*, Vol. 313, 2-3, 94-102.
- Rodriguez-Rocha H., Garcia-García A., Pickett C., Li S., Jones J., Chen H., Webb B., Choi J., Zhou Y., Zimmerman M.C., Franco R., (2013). Compartmentalized oxidative stress in dopaminergic cell death induced by pesticides and complex I inhibitors: distinct roles of superoxide anion and superoxide dismutases. *Free Radic. Biol. Med.*, Vol. 61, 370-383.
- Rollerova E., Wsolova L., Urbancikova M. (2014). Herbicide acetochlor interferes with proliferation activity of MCF-7 cells enhanced by estradiol. *Endocr. Regul.*, Vol. 48, 4, 195-200.
- Schafer F.Q., Buettner G.R. (2001). Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic. Biol. Med.*, Vol. 30, 11, 1191-1212.
- Shadnia S., Azizi E., Hosseini R., Khoei S., Fouladdel S., Pajoumand A., Jalali N., Abdollahi M. (2005). Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. *Hum. Exp. Toxicol.*, Vol. 24, 439-445.
- Sułowicz S., Piotrowska-Seget Z. (2016). Oddziaływanie fungicydów na mikroorganizmy w środowisku glebowym. *Post. Mikrobiol.*, Vol. 55, 1, 12-18.
- Wrzosek J., Gworek B., Maciaszek D. (2009). Środki ochrony roślin w aspekcie ochrony środowiska. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*, Vol. 3, 75-88.
- Zarkovic N. (2003). 4-hydroxynonenal as a bioactive marker of pathophysiological processes. *Mol. Aspects Med.*, Vol. 24, 4-5, 281-291.
- Zhang W., Jiang F., Ou J. (2011). Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. *Proc. Internat. Acad. Ecol. Environ. Sci.*, Vol. 1, 2, 125-144.

THE APPLICATION OF THE HUMAN CELL CULTURE IN THE STUDIES OF PESTICIDES IMPACT ON THE HUMAN ORGANISM

Abstract: In order to provide the food supply for an increasing human population products protecting plants against viral diseases, bacterial, fungal, pests and preparations stimulating their growth and development, known as pesticides, are commonly used. The aim of the paper is to show the way of their actions and the impact they have on the human body at the cellular level. Currently, in vitro cultures of human cell lines are a common model for research in this field. Properly chosen for the experiment cell lines allow for the study of the absorption of various chemicals, including pesticides through the epithelium of the digestive system, respiratory system and skin. They also enable the study of the effects of pesticides on the basic parameters of oxidative stress and the functioning of the endocrine system at the molecular level.

Pracę wykonano w Politechnice Białostockiej w ramach realizacji projektu badawczego finansowanego ze środków S/WBiIŚ/3/2015.