

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Vliv fytoestrogenů na reprodukci samic

Bakalářská práce

Autor práce: Veronika Malá

Obor studia: Zoorehabilitace a asistenční aktivity se zvířaty

Vedoucí práce: Ing. Kristýna Hošková, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv fytoestrogenů na reprodukci samic" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 17.4.2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Kristýně Hoškové, Ph.D. za její pomoc a trpělivé vedení práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině a přátelům Petře Marešové, Ágnes Moravcsíkové, Tereze Uhlířové, Anně Houskové a Tereze Jedličkové za jejich velkou podporu.

Vliv fytoestrogenů na reprodukci samic

Endokrinní disruptory jsou exogenní látky narušující zdraví organismu působením na žlázy s vnitřní sekrecí. Tuto heterogenní skupinu rozdělujeme na přírodní a syntetické chemické látky. Mezi přírodní endokrinní disruptory řadíme fytoestrogeny, které se nacházejí ve významných zemědělských plodinách, a to zejména v sóje, vojtěšce a jeteli. Fytoestrogeny se dělí na isoflavony, kumestany, lignany a stilbeny. Mezi nejprobádanější skupinu řadíme isoflavony, do které spadají daidzein, genistein, glycitein, biochanin A a formononetin. Fytoestrogeny disponují celou řadou biologických účinků a dokáží v organismu vyvolat pozitivní i negativní změny. Vazbou na estrogenní receptory se fytoestrogeny podílí na řízení buněčného cyklu, růstu buněk, jejich dělení a diferenciaci. Působí především na reprodukční soustavu, ale mohou ovlivnit i kostní tkáň, srdce či metabolismus lipidů.

Práce obsahuje informace o anatomii jednotlivých reprodukčních orgánů samice a popis fyziologie reprodukce samic. Mezi pohlavní orgány samice patří vaječníky, vejcovody, děloha, pochva, poševní předsíň a vateň. Hlavní funkcí reprodukční soustavy je dozrání vajíčka, jeho schopnost oplození a následný vývoj embrya a plodu. V kapitole fyziologie reprodukce jsou popsána místa sekrece pohlavních hormonů, hormony ovlivňující reprodukci samic a říjový cyklus.

V poslední části práce popisují vliv fytoestrogenů na reprodukci samic. Fytoestrogeny mohou významně ovlivnit reprodukční zdraví zvířat i lidí. Jejich účinky jsou závislé na výši dávky, způsobu užití a zejména na načasování. Mezi nejvýznamnější fytoestrogeny, které se podílejí na negativních účincích na reprodukční soustavu jsou genistein, daidzein a biochanin A. Fytoestrogeny a jejich metabolity mají schopnost ovlivnit hormony samic. Například mohou narušit funkci žlutého tělíska, vyvolat poruchy během rané březosti, zahrnující i časnou embryonální mortalitu, inhibovat endogenní produkci estrogenu ve vaječnicích, regulaci vývoje folikulů a vynechání říje. Mezi další vlivy fytoestrogenů patří jejich působení na oocyty. Jsou schopné zablokovat zrání oocytů ve stadiu zárodečného váčku a zároveň inhibovat expanzi kumulárních buněk úměrně k dávce. Dále bylo zjištěno, že inhibují oplodnění a embryonální vývoj.

Klíčová slova: Fytoestrogeny, genistein, biochanin A, reprodukce, samice

The influence of phytoestrogens on reproduction of females

Endocrine disruptors are exogenous substances disturb the health of the organism by treating the endocrine glands. This heterogeneous group divided into natural and synthetic chemicals. Among the natural endocrine disruptors belong phytoestrogens, which are in important agricultural crops, especially soybeans, alfalfa and clover. Phytoestrogens are divided into isoflavones, coumestans, lignans and stilbenes. Among the most documented group include isoflavones group consisting of daidzein, genistein, glycitein, biochanin A and formononetin. Phytoestrogens have a variety of biological effects in the body and can cause the positive and negative changes. Binding to the estrogen receptors, phytoestrogens involved in cell cycle control, cell growth, division and differentiation. It operates mainly on the reproductive system, but can also affect bone, heart or lipid metabolism.

This work contains information about individual anatomy of the female reproductive organs of female reproductive physiology description. Among the female reproductive organs include the ovaries, fallopian tubes, uterus, vulva, vestibule weighing. The main function of the reproductive system is mature ovum, the fertilization ability of subsequent embryonic development of the foetus. In Chapter physiology of reproduction are described Locations secretion of sex hormones, hormones that affect female reproductive estrous cycle.

The last part describes the influence of phytoestrogens on reproductive females. Phytoestrogens may significantly affect the reproductive health of both animals and humans. Their effects are dependent on the amount of dosage and mode of timing. The most important phytoestrogens, which are involved in negative effects on the reproductive system are genistein, daidzein and biochanin A. Phytoestrogens their metabolites affect the balance of females. For example, they can interfere with the function of the corpus luteum, cause disturbances during the early pregnancy, including the early embryo mortality, inhibit production of endogenous estrogen in the ovaries and the regulation of follicle development omissions rut. Other effects of phytoestrogens belong to their effect on oocytes. They can block the maturation of oocytes in the germinal vesicle stage at the same time inhibit the expansion of the cumulus cells, proportionally to the dose. It has also been found to inhibit fertilization embryonic development.

Keywords: Phytoestrogens, genistein, biochanin A, reproduction, female

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíl práce.....	2
3 Literární rešerše.....	3
3.1 Endokrinní disruptory.....	3
3.1.1 Mechanismus účinku endokrinních disruptorů.....	3
3.1.2 Rozdělení endokrinních disruptorů.....	4
3.1.2.1 Syntetické endokrinní disruptory	5
3.1.2.2 Přírodní endokrinní disruptory	8
3.2 Anatomie pohlavních orgánů samice	16
3.3 Fyziologie reprodukce samic.....	19
3.3.1 Sekrece pohlavních hormonů.....	19
3.3.2 Hormony ovlivňující reprodukci samic	21
3.3.3 Pohlavní (estrální) cyklus	24
3.4 Vliv fytoestrogenů na reprodukci samic	26
3.4.1 Morfologické změny v reprodukční soustavě.....	26
3.4.2 Vliv fytoestrogenů na hladinu hormonů	27
3.4.3 Změny v estrálním cyklu	30
3.4.4 Vliv fytoestrogenů na oocyty.....	30
4 Závěr.....	33
5 Seznam literatury	34

1 Úvod

V dnešní době nás obklopuje celá řada látek, které negativně ovlivňují organismus lidí i zvířat. Většinou jsou to látky s dlouhým poločasem rozpadu a schopností akumulace v organismu. Nalezneme je v půdě, vodě, potravě, vzduchu i různých materiálech obklopujících nás v běžném životě například v plastech. Mezi tyto látky spadají endokrinní disruptory. Hormonálně aktivní látky, které narušují funkce endokrinního systému. Dělí se na látky syntetické a přírodní.

Mezi přírodní disruptory se řadí fytoestrogeny, které mají schopnost ovlivňovat velkou část tělesných funkcí. Mohou mít pozitivní i negativní účinky, ale jeden z nejdiskutovanějších je jejich vliv na reprodukční soustavu. O vlivu fytoestrogenů na zdraví zvířat i lidí se provedlo již poměrně velké množství studií a postupně dochází k rozšiřování znalostí populace o této problematice.

2 Cíl práce

Fytoestrogeny patří mezi látky s endokrinně disruptčním efektem, které se běžně vyskytují v přírodě a ovlivňují organismus na mnoha úrovních, zejména v oblasti reprodukce. Cílem práce je zpracovat ucelený literární přehled o dosavadních poznatcích o působení těchto látek na reprodukci samic.

3 Literární rešerše

3.1 Endokrinní disruptory

Endokrinní disruptory (EDs) jsou látky, které se běžně vyskytují v prostředí dnešního moderního světa a je prakticky nemožné zabránit kontaktu s nimi (Phillips, 2008). Jsou to exogenní látky narušující zdraví organismu působením na žlázy s vnitřní sekrecí (Lee, 2007).

EDs mohou napodobovat, zablokovat, nebo modulovat syntézu hormonů. Dále jsou schopny zajišťovat uvolňování, transport, metabolismus či vazbu přirozených hormonů. I při velmi nízké koncentraci v prostředí mohou způsobit škodlivé účinky, zejména pokud několik EDs působí na jeden cíl (Caserta et al., 2008). EDs představují velmi heterogenní skupinu zahrnující syntetické i přírodní chemické látky, podle původu jejich výskytu (Phillips, 2008).

3.1.1 Mechanismus účinku endokrinních disruptorů

Účinky EDs mohou být zprostředkovány narušením více mechanismů hormonální regulace současně. Jejich účinky mohou být druhově specifické, v závislosti na pohlaví, vývojovém stádiu a typu exponovaných buněk. EDs ovlivňují endokrinní systém. Vzhledem ke schopnosti vazby na estrogenové receptory (ER), působí zejména na reprodukční soustavu (Diamanti – Kandarakis et al., 2009).

ER se na základě své odlišné struktury dělí na 2 subtypy – α a β . Distribuce obou typů ER je v buňkách i tkáních organismu různá. ER α je zastoupen zejména v tkáních hypofýzy, prsu, dělohy, varlat a ledvin. ER β má širší rozptřeni v organismu a vyskytuje se v hypothalamu, vaječnicích, prostatě, ledvinách, plicích, kardiovaskulárním systému a gastrointestinální traktu. Ve většině tkání ovšem nalezneme oba dva typy receptorů zároveň. V některých tkáních převažují ER α a v jiných ER β (Diamanti – Kandarakis et al., 2009; Singleton a Sohaib, 2003). I v rámci buňky je distribuce ER odlišná. Receptory nalezneme na buněčných membránách, volně v cytosolu nebo v jádře (Hrubá, 2009).

Na tyto ER se váže široká škála ligandů (endogenní estradiol či EDs). Afinita jednotlivých ligandů se může značně lišit – některé EDs vykazují preferenci pro jeden podtyp, např. fytoestrogeny a bisfenol A mají značně vyšší afinitu k ER β (Singleton a Sohaib, 2003).

Látky mající efekt na endokrinní systém mohou působit agonisticky nebo antagonisticky. Při agonistickém působení se EDs napojují na receptor na vnější straně membrány, nebo na receptor uvnitř buňky. Díky této vazbě se může receptor aktivovat a spustit stejnou reakci

jako při vazbě s hormonem. Dochází k transkripci určitého genu bez hormonálního podnětu, což se projeví špatně načasovanou či neumírněnou reakcí. Druhou možností po vazbě látky na receptor je antagonistické působení. Receptor je vazbou zablokován pro působení hormonů a k žádné další akci nedochází. Není tak umožněna správná odezva cílových buněk nebo orgánů na hormonální podnět (WHO, 2002).

Zároveň se liší způsob, jakým EDs ovlivňují jednotlivé typy ER – např. demetylovaný pesticid methoxychlor vykazuje k ER α agonistickou aktivitu, zatímco k ER β antagonistickou. Konečné působení EDs závisí na koncentraci endogenního estradiolu v organismu. Obecně platí, že u xenoestrogenů je třeba 100krát až 1000krát vyšší koncentrace, aby dokázaly podobný biologický účinek ve srovnání s endogenním estradiolem (Singleton a Sohaib, 2003).

Kromě vazebného receptorového mechanismu se studují i jiné mechanismy působení, zejména fosforylace receptorů (důležitá pro účinek hormonů) a inhibice aromatázy (např. některými fungicidy), která brání konverzi androgenů na estrogeny (Hrubá, 2009).

EDs projevují řadou konkrétních vlastností. Jejich účinky mohou být potlačeny nebo zcela vymizet v případě, že koncentrace EDs v organismu je vyšší, než je fyziologická koncentrace hormonálního protějšku. Tato schopnost dosáhnout paradoxně silnějších účinků při nízkých dávkách než ve vysokých, je označováno jako „low dose effect“ (Vandenberg et al., 2012).

3.1.2 Rozdělení endokrinních disruptorů

EDs jsou velmi heterogenní skupina látek a rozdělujeme je na syntetické a přírodní disruptory. Syntetické vznikají činností člověka a používají se v chemickém průmyslu, jako chemická mazadla, rozpouštědla a jejich vedlejší produkty (polychlorované bifenyly, polybromované bifenyly, dioxiny), plasty (bisfenol A), změkčovadla (ftaláty), pesticidy (methoxychlor, chlorpyrifos, dichlorodifenyl-trichlorethan (DDT)), fungicidy (vinklozolin) a farmaceutická činidla (diethylstilbestrol) (Phillips, 2008).

Mezi přírodní disruptory se řadí fytoestrogeny, které se vyskytují v rostlinách (daidzein, genistein, kumestrol) (Ünüvar a Büyükgözü, 2012). Dále mykotoxiny, které vznikají jako sekundární produkty plísní, které kolonizují některé plodiny (Kalač a Míka, 1997).

3.1.2.1 Syntetické endokrinní disruptory

Výběr několika nejvýznamnějších syntetických endokrinních disruptorů.

Polychlorované bifenyly (PCB)

PCB je molekula bifenyly, na které molekuly chloru nahradily dva nebo větší počet atomů vodíku. Zahrnují 209 kongenerů (příbuzných látek). Vlastnosti, které dělaly z PCB atraktivní chemikálie, byly například jejich odolnost na vysokou teplotou varu a nízká rozpustnost ve vodě. Tyto fyzikální vlastnosti znamenaly, že PCB bylo těžké spálit, zničit pomocí kyselin a zásad a byly většinou inertní. V důsledku toho byly PCB používány ve výrobě mnoha produktů včetně lepidel, zářivek, izolace v transformátorech, hydraulických kapalin, změkčovadel, laků, barev a ochranných nátěrů na dřevo, kov či beton (Coyne, 2016).

Dioxiny

Je známo přibližně sedmdesát pět různých typů dioxinů, ale termín „dioxin“ se nejčastěji užívá na typ 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD). V chemickém průmyslu vznikají jako vedlejší nežádoucí produkt např. při výrobě pesticidů. Dioxiny nemají jednotné účinky. Budí také znepokojení, protože působení této chemické látky i ve stopovém množství může způsobit vážné zdravotní problémy u lidí i jiných organismů (Bechtel, 2016).

Bisfenoly

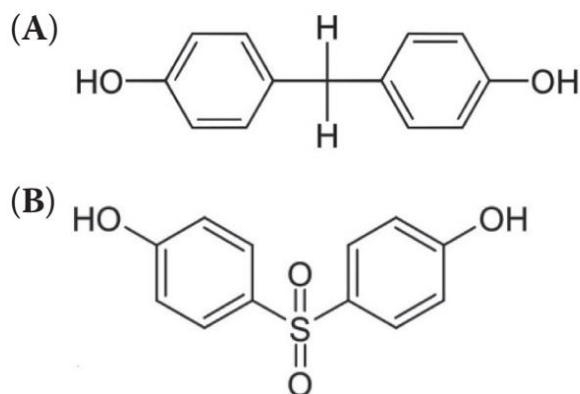
Bisfenoly patří mezi početnou rodinu chemikálií. Nejpoužívanější je Bisfenol A (viz. obr. 1) a jeho chemická struktura je 2, 2-bis(4-hydroxyphenyl) propan. Využívají se k výrobě polykarbonátu plastů a epoxidových pryskyřic. Nalezneme jej v běžně používaných spotřebitelských výrobcích (kosmetice, dentálních materiálech, nádobí, hračkách atd). Bisfenol A (BPA) a jeho přítomnost v každodenním životě je znepokojující (Vandenberg et al., 2009)).

Studie dokazují, že BPA má vliv na výskyt abnormalit v oblasti reprodukčního systému, vyšší výskyt kardiovaskulárních onemocnění, narušuje vývoj nervové soustavy, rakoviny a často se diskutuje jeho vliv na vznik cukrovky (Lang et al., 2008). Jedná se o nejvíce vyráběnou chemikálii a odhaduje se, že se do atmosféry uvolní každý rok více než 100 tun (Vandenberg et al., 2009).

Jeho hlavní cesta vstupu do organismu je nejčastěji kontaminovanou potravou, vodou, prachem nebo při kontaktu s kůží. Jako kritické využití Bisfenolu A můžeme zejména označit výrobu plastových lahví (PET), potravinových dóz a kojeneckých lahví (Kojenecké láhve

s BPA jsou v EU zakázány od roku 2011). Výše uvedené poznatky vedly k přísnější regulaci používání BPA a jeho nahrazování jinou chemickou látkou (Vandenberg et al., 2009).

Hlavní alternativou se stal Bisfenol-S (BPS, 4,4'-sulfonyldiphenol) (viz. obr. 1) a došlo k označování výrobků „BPA free“ (Grignard et al. 2012). V současné době jsme svědky náhrady BPA za termostabilnější náhradu - bisfenol S (BPS), který se vyskytuje v celé řadě materiálů. Objevují se studie, které ukazují, že BPS vlivem své pomalé degradace může být ještě více nebezpečný než BPA. Vzhledem k vyššímu počtu studií odhalující negativní účinky tohoto bisfenolu na zdraví živočichů, vyvstávají otázky, zda se nejedná o jeden z příkladů „politováníhodné náhrady“ (Žalmanová et al., 2016).



OBR.1: (A) Bisfenol A, (B) Bisfenol S

Převzato z (Žalmanová et al., 2016)

DDT (dichlordifenyltrichlorethan)

Dichlordifenyltrichlorethan (DDT) je patrně nejznámější a nejužitečnější insekticid na světě. První syntéza se datuje na rok 1874 a jeho insekticidní vlastnosti objevil Paul Müller v roce 1939. Jeho celosvětová výroba dosáhla vrcholu v roce 1964 a to na 90 milionů kilogramů. Sloučeniny DDT mohou snížit počet spermií, plodnost, ovlivnit nástup puberty, měnit mužské a ženské vlastnosti, zvyšovat riziko rakoviny reprodukčních orgánů. Dále ovlivňují růst, vývoj, metabolismus a reprodukci. Byl také hlavním impulsem pro vznik sdružení zaměřujícího se na ochranu životního prostředí a veřejného zdraví (Husic a Kähler, 2016).

Ftaláty

Z chemického hlediska jsou ftaláty estery kyseliny ftalové. Představují skupinu asi 40 látek. K nejznámějším patří di-(2-ethylhexyl) ftalát (DEHP), di-butyl ftalát (DBP), di-ethyl ftalát (DMP), benzylbutyl ftalát (BBP) a diisononyl ftalát (DINP). Můžeme je najít ve většině předmětech denní potřeby vyrobených z nejrůznějších materiálů, nejpoužívanější jsou však plasty. Ftaláty jsou syntetické látky využívané nejčastěji jako změkčovadla především polyvinylchlorid (PVC). Jako přídatné látky poskytují plastům měkkost a pružnost (Heudorf et al. 2007).

Pesticidy

Pesticidy jsou jednou z mála chemických látek vypuštěných do životního prostředí za účelem usmrcení škůdců – například plevelů, hmyzu, plísní či hlodavců. Podle konkrétního účelu lze pesticidy rozdělit na herbicidy, insekticidy, fungicidy, rodenticidy, moluskocidy a další (Matthews, 2006). Díky jejich perzistenci a schopnosti bioakumulace je můžeme nalézt ve všech složkách životního prostředí. S expozicí pesticidů se pojí řada onemocnění, včetně rakoviny, narušení činnosti hormonů, astmatu, alergií, a přecitlivělosti (Van Maele-Fabry et al., 2010).

3.1.2.2 Přírodní endokrinní disruptory

Fytoestrogeny

Fytoestrogeny jsou přirozené aktivní látky obsažené v rostlinách. Chemickou strukturou jsou fytoestrogeny estrogenům vzdálené, jejich společným rysem je fenolové jádro v molekule, které umožňuje vazbu na ER s následnou metabolickou aktivitou a vylučování fytoestrogenů z organismu, podobně jako endogenní estrogenu (Vrzáňová a Heresová, 2005).

Poprvé byly popsány v roce 1946 v souvislosti s poruchami plodnosti australských ovcí, pasených na porostu bohatém na jetel podzemní (*Trifolium subterraneum*). U těchto ovcí začalo postupně docházet vlivem pastvy ke klesání zabřezávání, častým potratům a poporodním komplikacím (úhyn prvniček po porodu dosahoval až 70 %). Dále byly tyto látky studovány v kontextu jejich negativních dopadů na fertilitu zvířat (Sosvorová et al., 2010). Medicína se o fytoestrogeny začala zajímat v osmdesátých letech dvacátého století, a to v souvislosti s výsledky několika epidemiologických studií. V těchto studiích bylo zjištěno, že asijská populace má celkově nižší incidenci výskytu menopauzálních obtíží, a to právě díky značné konzumaci sójových produktů, jednoho z hlavních zdrojů fytoestrogenů (Vrzáňová a Heresová, 2005).

V rostlinách se fytoestrogeny vyskytují převážně jako konjugované glykosidy (Moravcová, 2002) a jejich funkce je odlišná od úlohy estrogenů u živočichů. Fytoestrogeny u rostlin plní zejména funkci ochrannou a obrannou. Posilují imunitu rostliny a chrání ji před patogeny. Mají vlastnosti antioxidační, antiparazitární, antivirové, antibakteriální a fungicidní vlastnosti (Vrzáňová a Heresová, 2005). Pro lidskou i zvířecí populaci jsou hlavním zdrojem fytoestrogenů luštěniny, jeteloviny a obilniny (Moravcová, 2002).

Biologické účinky fytoestrogenů nejsou zcela identické s účinky čistých estrogenů (Opletal a Šimerda, 2010). Nejaktivnějšími fytoestrogeny jsou isoflavonoidy, především daidzein a genistein; přírodní látky vyskytující se hlavně v luštěninách. Nejbohatšími zdroji isoflavonoidů jsou sója (*Glycine max*, *Fabaceae*) a jetel luční (*Trifolium pratense*, *Fabaceae*), (Sosvorová, 2010). Nejrozšířenější rozdělení fytoestrogenů je na isoflavony, lignany, kumestany a stilbeny (Moravcová, 2002).

Isoflavony

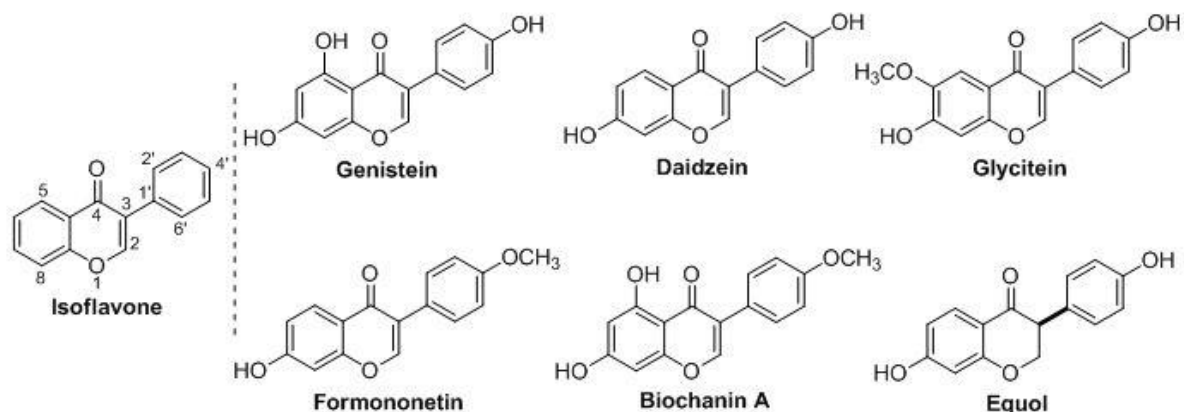
Isoflavony patří k nejlépe probádaným fytoestrogenům. V rostlinách účinkují jako antioxidanty, neboť jsou schopny inhibovat tvorbu superoxidových aniontů. Často bývají označovány přívlastkem anti – aging, a to pro svoji schopnost ochránit rostlinu (Slíva, 2009).

V přírodě je nalezneme zejména v rostlinné čeledi Fabaceae. V menším množství se isoflavonony vyskytují také v některých dalších rostlinných čeledích, např. laskavcovitých (*Amaranthaceae*), kosatcovitých (*Iridaceae*), morušovníkovitých (*Moraceae*) a růžovitých (*Rosaceae*); jejich význam je dalekosáhlý (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Nejbohatším zdrojem isoflavonů je bez pochyb sója luštinatá, dále se vyskytují v červeném jeteli a některých léčivých rostlinách (Kručinka barvířská, janovec metlatý) (Moravcová, 2002). Sója je nejčastěji používaná jako potravina či jako krmivo pro psy a hospodářská zvířata. Krmiva pro psy průměrně obsahovala více fytoestrogenů než krmiva pro kočky, dle výzkumu Bell et al. (2010). Nejvíce estrogenních vlastností mají genistein, daidzein, glycitein a biochanin A (Vrzáňová a Heresová, 2003).

Nejvýznamnější isoflavon je daidzein (7,4'-dihydroxyisoflavon), který je nejaktivnějším estrogenním isoflavonem, dále pak genistein (7,4'-dihydroxy-6-methoxyisoflavon), glycitein (7,4'-dihydroxy-6-methoxyisoflavon), biochanin A, (5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavon) a formononetin (7-hydroxy-4'-methoxyisoflavon) (viz. Obr. 2). Většina isoflavonů se vyskytuje ve formě β -glykosidů, převážně jako 7- β -D-glykosidy. Glykosidem daidzeinu je daidzin, genisteinu genistin, a glyciteinu glycitin (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Fytoestrogeny disponují celou řadou biologických účinků. Prakticky hlavním biologickým účinkem je estrogenní aktivita. Konfigurace isoflavonů je blízká estradiolu. Na rozdíl od tohoto endogenního savčího estrogenu, který se váže především na ER α , mají tyto fytoestrogeny především afinitu k ER β (Opletal a Šimerda, n.d).



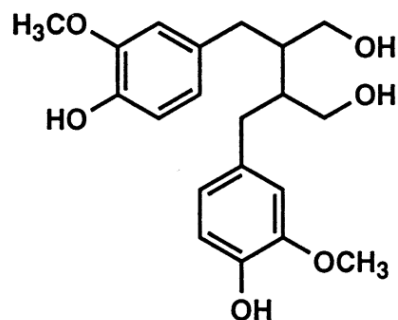
OBR. 2: Chemická struktura isoflavonů

Převzato z (Michel, T., Halabalaki, M., Skaltsounis, A.L. 2013. New concepts, experimental approaches, and dereplication strategies for the discovery of novel phytoestrogens from natural sources. *Planta Med.* 79 (7). 514–532.)

Lignany

Lignany se vyskytují v přírodě ve velkém množství, a to v nejrůznějších semenech, celých zrnech, luscích zeleniny a v ovoci. Avšak při technologickém zpracování pomocí moderní techniky mletí, je obvykle frakce lignanů oddělena společně se slupkami a vlákninou (Moravcová, 2002). Lignany jsou deriváty fenylypropanových jednotek, které se v přírodě vyskytují ve vysokém měřítku (Opletal a Šimerda, 2010). Název lignany zahrnuje velkou skupinu sloučenin, mezi ně se například řadí matairesinol (viz. OBR. 3), secoisolariciresinol (viz. OBR.4) či hydroxymatairesinol. V rostlinách se vyskytují jako glykosidy a hlavním potravinovým zdrojem lignanů je lněné semínko (Schwartz et al., 2009).

Funkce lignanů v rostlinách je chemická ochrana před působením hmyzu, mikroorganismů, a dokonce i ochrana před působením jiných rostlin. Proto není překvapující, že lignany jsou součástí vnější vrstvy stěn rostlinných buněk (Crosby, 2005).

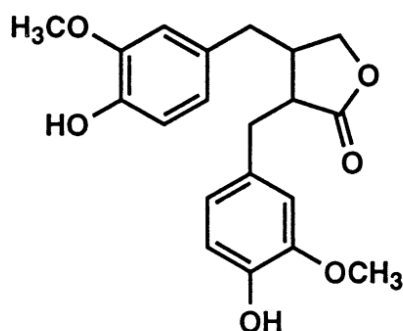


Secoisolariciresinol

OBR. 3: Secoisolariciresinol

Převzato z (Mazur, W. M., Duke, J. A., Wahala, K., Rasku, S., Adlercreutz, H. 1998.

Isoflavonoids and lignans in legumes: nutritional and health aspects in humans. *The Journal of nutritional biochemistry (USA)*. 9 (4). 193.)



Matairesinol

OBR. 4: Matairesinol

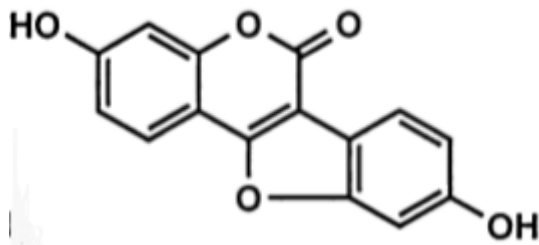
Převzato z (Mazur et al., 1998)

Kumestany

Tyto látky vycházejí biogeneticky z isoflavonů a proto je běžné, že mezi zástupci čeledi *Fabaceae* nalezneme vždy vedle isoflavonů i kumestany (Opletal a Šimerda, n.d). Kumestany jsou obsaženy v mladých luštěninách, bohatým zdrojem je červený jetel (Vrzáňová a Heresová, 2005).

Kumestany jsou silnější estrogenně působící látky nežli isoflavony (Vrzáňová a Heresová, 2005). Byla izolována celá řada kumestanů, dle estrogenní aktivity a obsahu v rostlinném materiálu. Z kumestanů je za nejvýznamnější považován kumestrol (viz. obr. 5) (Moravcová, 2002). Nejvyšší obsah kumestrolu je ve slupkách sójových bobů a společně

s isoflavonem formononetinem je kumestrol obsažen v klíčících sójových bobech a dalších luštěninách (Velíšek a Hajšlová, 2009).



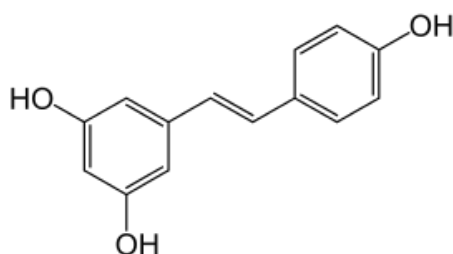
OBR. 5: Kumestrol

Převzato z (Mazur et al., 1998)

Stilbeny

Patří mezi sekundární metabolity tvořené základním chemickým skeletem C6-C2-C6. Nacházejí se jako volné sloučeniny v některých rostlinách, doprovázené svými glykosidy (Velíšek a Hajšlová, 2009). Nejvýznamnějším stilbenem je resveratrol (trans-3,4',5-trihydroxystilben) (viz. OBR.6), který je nejvíce obsažen ve slupkách červené vinné révy. Jeho koncentrace je několikanásobně vyšší u červené odrůdy oproti bílé (Moravcová, 2002).

Laboratorní výzkumy zjistily, že funguje jako antioxidant proti volným radikálům buněčného poškození. Bylo také zjištěno, že může být nápomocný při prevenci některých druhů rakoviny. Je schopen zpomalit nebo zastavit progresi stadia rakoviny a metastáz, snížit zánětlivost, výskyt srdečních chorob a prodloužit životnost (Richer, 2017).



OBR. 6: Resveratrol

Převzato z (<https://cs.wikipedia.org/wiki/Resveratrol>)

Metabolismus a mechanismus působení fytoestrogenů

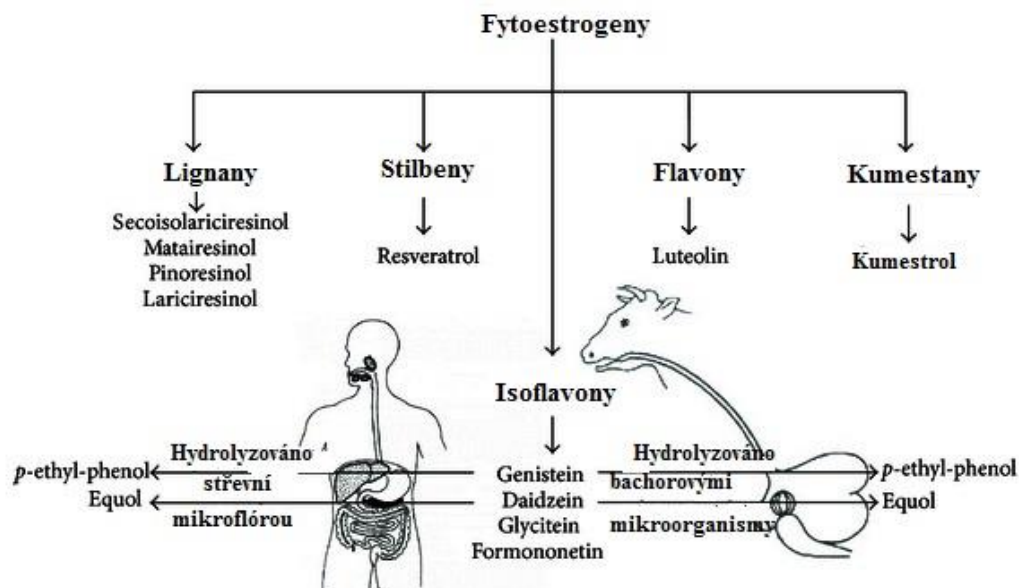
Metabolismus fytoestrogenů je variabilní, individuální a poměrně složitý proces. Závisí na mnoha faktorech, jako je věk a druh zvířete, také na době expozice a dávce fytoestrogenů (Reinli et Block, 1996).

Pro vstřebávání fytoestrogenů v organismu hraje klíčovou roli střevní mikroflóra. Pro zvířata je schopnost produkovat fytoestrogenní metabolity na rozdíl od lidí běžná, protože jsou jejich střeva kolonizována specifickými bakteriálními kmeny. V průběhu trávení přijaté rostlinné potraviny jsou daidzein a genistein přeměňovány bachorovými mikroorganismy na equol a p-ethylfenol (viz. obr. 2) (Lundh T, 1995).

Většina fytoestrogenů se vyskytuje v glykosidicky vázané formě a fyziologicky důležité hydroxylové skupiny mohou být metylovány. Prvními kroky aktivace v organismu je tedy štěpení glykosidických vazeb a demethylace (Sosvorová, 2010). Hydrolýza na aglykony usnadňuje vstřebávání do krevního řečiště, a to z důvodu nižší molekulové hmotnosti a snadněji pronikání skrz stěnu tenkého střeva (Xu et al., 2000).

Po vstřebání v tenkém střevě podléhají fytoestrogeny konjugaci, stejně jako estrogény. Ze střeva se vrátnicovou žílou dostávají do jater, kde jsou podrobeny konjugačním reakcím. Vzniklé konjugáty jsou buď vyloučeny do moči, nebo putují do žluči a následně podléhají enterohepatálnímu cyklu (Vrzáňová a Heresová, 2005).

Podobně jako ostatní EDs i fytoestrogeny ovlivňují organismus prostřednictvím ER α a ER β . Jejich afinita pro ER α a ER β je relativně slabá v porovnání s estradiolem. Účinek závisí na přítomnosti estradiolu a dle toho fytoestrogeny vykazují agonistický či antagonistický účinek. Některé fytoestrogeny mají lepší afinitu k ER β než k ER α (Shanle a Xu, 2011). Afinita fytoestrogenů pro estrogenové receptory je pouze 0,1 % až 1 % oproti endogenním estrogenům (Woclawek – Potocka et al., 2005). Ačkoliv je vazebná aktivita fytoestrogenů podobného charakteru, nacházíme drobné rozdíly v jejich působení. Jejich vazná a estrogení aktivita totiž není stejně silná. Přičemž nejsilnější vaznou a estrogení aktivitu má genisten, dále daidzein a biochanin A (Benassayag et al., 2002). Největší rozdíl afinity k ER vykazoval genistein, který prokázal až 20krát vyšší afinitu k ER β než k ER α (Singleton a Sohaib, 2003).



OBR. 7: Metabolismus fytoestrogenů

Převzato z (Woclawek – Potocka et al., 2013)

Účinky fytoestrogenů

K zjištění možných účinků fytoestrogenů se využívá experimentů na zvířatech, buněčných a tkáňových kulturách, ojediněle jsou prováděny výzkumy na lidské populaci. Bylo zaznamenáno evidentní narušení reprodukčních a vývojových schopností, zpomalení růstu, zvýšení zhoubného bujení, poruchy imunity a změny chování (Rogan a Ragan, 2003). Naopak díky jejich estrogenním vlastnostem mohou mít i prospěšné účinky na zdraví, a to zejména v oblasti kardiovaskulárních onemocnění, při vzniku rakovin prsu, prostaty, menopauzálních syndromů, obezity a osteoporózy (Stark a Madar, 2002).

Výše zmíněné pokusy byly převážně prováděny vystavením vysokým dávkám fytoestrogenů o vysoké koncentraci. Nicméně expozice běžné populace je spíše dlouhodobá a s nízkou koncentrací. Změny probíhají latentně jako např. hypo/hyperfunkce žláz s vnitřní sekrecí (Rogan a Ragan 2003).

Velký potenciál fytoestrogenů je v možném redukování klimakterických obtíží u žen. Nehormonální terapie založená na podávání fytoestrogenů může nahrazovat účinek estrogenních hormonů bez vzrůstajícího rizika tromboembolické choroby a výskytu karcinomu prsu a endometria. Účinek nehormonální alternativy na redukci klimakterických symptomů je nižší než u hormonální terapie, nicméně placebem kontrolované studie potvrdily jejich schopnost snížit četnost a subjektivní intenzitu symptomů. Zdají se být tedy účinné při

vegetativních poruchách během menopauzy, ale nejsou terapeutickou alternativou její léčby (Opletal a Šimerda, 2010). Pozitivní účinky fytoestrogenů byly objeveny také ve vztahu k osteoporóze (Usui, 2006), přestože doposud chybí dlouhodobá studie na dostatečném počtu probandek, která by tuto skutečnost potvrdila či vyvrátila (Sosvorová et al., 2010).

V lidské populaci je míra vystavení fytoestrogenů poměrně těžce měřitelné už jen z toho důvodu, že metabolismus fytoestrogenů není u všech lidí stejný. Zejména záleží na střevní mikroflóře každého jedince (Usui, 2006). Většina pozitivních účinků fytoestrogenů je však pozorována jen na základě laboratorních studií (Olle, 2017). Bylo zjištěno, že expozice stejné dávky chemické látky, ale v různých etapách života (nebo v různých ročních obdobích), může vyvolat různě se manifestující poškození, ale zároveň se nějaké účinky vůbec nemusí projevit (Hrubá, 2009). Děti a novorozenci jsou celkově citlivější na působení fytoestrogenů než dospělí jedinci. Metabolické cesty fytoestrogenů u mláďat nejsou totožné s dospělými, a to zejména v prvních měsících života. Fytoestrogeny také působí během nitroděložního vývoje na růst a vývin plodu (Bruckner, 2000).

Experimenty na potkanech ukazují, že prenatální či perinatální vystavení fytoestrogenům vede k změnám v oblasti reprodukce (změny koncentrace hormonu v séru, rysy říje, cyklu a dále hmotnosti vaječnicků, dělohy). Tyto změny se mohou projevit později např. až při dosažení pohlavní dospělosti (Kunimatsu et al., 2004). Ovšem pro konečné závěry s ohledem na lidské zdraví bychom měli počkat na výsledky dlouhodobých klinických studií (Olle, 2017).

3.2 Anatomie pohlavních orgánů samice

Samičí pohlavní orgány se rozdělují na orgány pro tvorbu zárodečných buněk a orgány pro jejich uchování, respektive odvádění (König a Liebich, 2002). Rozdělujeme na vnitřní a vnější.

Vaječník (*Ovarium*)

Vaječník je párový orgán tuhé konzistence, ovoidního tvaru s hrbolatým povrchem. Uložení vaječníků u feny a kočky je vysoko dorzálně v bederní oblasti. U ostatních domácích savců dochází k sestupu vaječníků. Například u skotu cestují ventrálním směrem k břišní stěně a nacházejí se kraniálně od *pecten ossis pubis* (König a Liebich, 2002).

Na řezu vaječníkem lze rozlišit dřeň (*cortex ovarii*) a kůru (*medulla ovarii*). Tvar, velikost a povrch jsou druhově specifické a vaječník se mění i v souvislosti se změnami pohlavního cyklu samice. U mladých samic je povrch hladký, u dospělých je jizvovitě zbrzděn.

U pohlavně vyžralých samic se v kůře vaječníku vyskytují folikuly v různém stupni zralosti (Červený, 2011). Rozeznáváme následující vývojová stádia folikulů: Primordiální, primární, sekundární, terciální a Graafův folikul (König a Liebich, 2002). Primordiální folikuly vznikají v období intrauterinního vývoje a brzy po narození samice. Jsou malé a je jich až 200 000, v závislosti na živočišném druhu. Pouze malá část z nich se vyvine ve zralý folikul s vajíčkem uvnitř, které je schopné oplození. Většina folikulů podléhá regresí. Primární folikuly se nacházejí v kůře pod povrchem vaječníku a jsou obalené jednou vrstvou kubických až cylindrických buněk (Červený, 2011). Sekundární vaječnickové folikuly mají vícevrstevný obal a zesílením vnitřních vrstev stěny folikulu vzniká terciální folikul. Konečným stádiem zrání je Graafův folikul, který je připraven k ovulaci. Spolu s folikulem roste také vajíčko, které je v Graafově folikulu při ovulaci vyplaveno a čeká na oplození (König a Liebich, 2002).

Vejcovod (*tuba uterina*)

Vejcovod je dlouhý, úzký, trubicovitý orgán z hladké svaloviny a sliznice. Zachycuje uvolněné vajíčko při ovulaci a aktivně jej dopravuje do dělohy. Vejcovod spojuje vaječník s rohem děložním (Najbrt, 1982). Vaječník a vejcovod jsou připevněny k širokému okraji předního vazu pomocí závěsů; *mesovarium* a *mesosalpinx*. V těchto závěsech probíhají cévy a nervy pro tyto orgány (König a Liebich, 2002). Dochází zde k oplození a počátečnímu vývoji zygoty. Na vejcovodu rozlišujeme širokou nálevku, která je vystlána četnými slizničními

třásněmi a přisedá na povrch vaječníku. Dále má vejcovod zvlněný a méně rozšířený úsek, na který navazuje konečný, zúžený a často klikatý úsek (Červený, 2011).

Děloha (*uterus*)

Děloha je dutý orgán, ve kterém se vyvíjí zárodek. Její tvar závisí na stupni splynutí oboustranných základů dělohy (Müllerových vývodů). Děloha se skládá z těla děložního, které kaudálně přechází v děložní krček. Kraniálně vybíhá děložní tělo ve dva děložní rohy, a to v případě, že se jedná o dvojrohou dělohu (*uterus bicornis*). Tělo a děložní rohy ohraničují děložní dutinu, která navazuje kaudálně na kanálek děložního krčku. Děložní krček (*Cervix uteri*) je nejkaudálnějším úsekem dělohy, který přechází v pochvu. Na děloze je dobře identifikovatelný palpací z důvodu velmi silné stěny (Červený, 2011).

Děložní rohy šelem jsou silné jako tužka a zasahují daleko do břišní dutiny. Prasnice má děložní rohy podobné kličkám tenkého střeva, lokalizované rovněž v břišní dutině. U skotu a malých přežvýkavců jsou děložní rohy (*cornua uteri*) svinuté jako ovčí rohy. Hroty děložních rohů leží před *pecten ossis pubis*. Klisna vlastní nejprostornější děložní tělo (*corpus uteri*) (König a Liebich, 2002).

Na řezu dělohou se dají rozpoznat tři vrstvy. Slizniční vrstva (*endometrium*), kterou kryje cylindrický epitel, vystýlá dělohu a její tloušťka je závislá na stádiu cyklu. Na jejím povrchu ústí tubulózní žlázy (König a Liebich, 2002). Například u přežvýkavců se nachází permanentní vyvýšení – *carunculae*. Jsou to v podstatě bez žlázové oblasti děložní sliznice, které se v době březosti zvětšují a slouží k upevnění placenty (Červený, 2011).

Svalová vrstva (*myometrium*) je značně vyvinutá a bohatá na elastická vlákna. Vnitřní, silnější kruhová vrstva svaloviny je oddělena od vnější - podélné vrstvy řídkého vaziva (Najbrt, 1982). *Myometrium* napomáhá transportu spermií po zapuštění nebo vypuzuje koncept při porodu (Doležel a Kudláč, 1997). Během gravidity se svalová vrstva zeslabuje a roztahuje. Povrch dělohy tvoří serózní vrstva (*perimetrium*), která je připojena ke svalovině pomocí subserosní vrstvy (Najbrt, 1982).

Pochva (*vagina*)

Vagina se rozkládá od děložního krčku až po ústí samičí močové trubice, které je na hranici mezi pochvou a poševní předsíní. Je to dlouhá tenkostěnná trubice roztažitelná do délky i šířky za účelem kopulace, zvláště pak při porodu (Červený, 2011). Její sliznice je kryta vrstevnatým dlaždicovým epitelem a pod sliznicí se nachází svalová vrstva hladké svaloviny. Poševní sliznice prodělává cyklické změny v souvislosti s pohlavním cyklem. Její

epitel se před říjí a během říje zvyšuje, povrchové vrstvy rohovatí, odlupují se a nacházejí se volně v pochvě (Najbrt, 1982). U mladých nekopulujících samic je dutina pochvy z části oddělena od poševní předsíně prstencovitou slizniční řasou zvanou panenská blána – *hymen* (Červený, 2011).

Pochva krávy je přibližně 20 cm dlouhá a uložená podélně v pánvi. Pochva prasnice je dlouhá 10 cm. Vagina kočky je přibližně dlouhá jako poševní předsíň, tedy asi jen 2 cm a u feny je poševní sliznice zřasená podélně i cirkulárně (Najbrt, 1982).

Poševní předsíň (*vestibulum vaginae*)

Poševní předsíň leží kaudálně a je skloněna směrem k stydkým pyskům. Představuje orgán, kde splývá vývodná cesta pohlavní s vývodnou cestou močovou a sahá od zevního vyústění močové trubice až po vateň. Sliznice poševní předsíně je zvlhčována žlázami, jejichž sekret snižuje tření pohlavních orgánů při kopulaci. Během říje vůně sekretu sexuálně stimuluje samčího partnera (König a Liebich, 2002).

U feny ústí na dně poševní předsíně malé vestibulární žlázy. Tyto žlázy se vyskytují i u prasnice, ovce, klisny i skotu. U skotu se navíc vyskytují laterálně dvě větší skupiny žláz s jedním větším vývodem (König a Liebich, 2002; Najbrt, 1982).

Vateň (*vulva*)

Vateň (ochod) je z každé strany tvořena jedním stydkým pyskem, které se setkávají v horní a dolní spojce. Nachází se ventrálně od řitě, od níž je oddělena pomocí krátké hráze. Spolu s poštváčkem tvoří zevní části samičí pohlavní soustavy (Marvan et al., 2011). Ve ventrální komisuře se nachází poštváček, který je schovaný v poševní předsíni (König a Liebich, 2002). Vulva je společné zakončení močových a pohlavních vývodných cest samice (Červený, 2011).

3.3 Fyziologie reprodukce samic

3.3.1 Sekrece pohlavních hormonů

Kůra mozková a podkorová vrstva

Tato centra prostřednictvím smyslových orgánů (čichu, zraku, sluchu, hmatu, chuti) přijímají informace o vnějším prostředí a prostřednictvím periferních nervů, míchy a vegetativního nervového systému přijímají informace z vnitřního prostředí (Doležel a Kudláč, 1997).

Zvláštními indikátory zevního prostředí jsou feromony, které představují těkavé látky detekovatelné čichem. Jsou vylučované samicemi i samci a napomáhají v rámci živočišného druhu k detekci pohlaví a aktuální pohlavní aktivity. Veškeré informace jsou analyzovány prostřednictvím stimulačních nebo inhibujících nervových stimulů jsou předávány do hypotalamu (Doležel a Kudláč, 1997).

Epifýza

Epifýza (šišinka) je schopná v závislosti na impulzech z n. opticus a supraoptického jádra měnit svoji aktivitu, a tak ovlivňovat pohlavní aktivitu svými produkty, které mají přímo nebo nepřímo vliv na hypotalamus (Doležel a Kudláč, 1997). Za nejvýznamnější hormon epifýzy se považuje melatonin. U vyšších obratlovců tvoří takzvané biologické hodiny pro udržování životních cyklů (Marvan et al., 2011).

Hypotalamus

Hypotalamus představuje hlavní řídicí centrum všech životních a hormonálních funkcí (Marvan et al., 1997). Je to hlavní řídicí struktura pro pohlavní aktivitu. Hypotalamus kontroluje uvolňování hormonů hypofýzy do krve prostřednictvím několika „propouštěcích hormonů“. Mezi ně patří gonadotropní uvolňující hormon (GNRH), který řídí hypofýzu při vydávání luteinizačního hormonu (LH) a folikuly stimulujícího hormonu (FSH). Přijímá informace neurální i humorální cestou a vydává informace již jen humorální cestou. Hypotalamus informace analyzuje, syntetizuje a podle aktuální situace přizpůsobuje aktivitu svých neurosekrečních buněk, jejichž produkty ovlivňují podřízené struktury hypofýzy (Doležel a Kudláč, 1997).

Hypofýza

Hypofýza (podvěsek mozkový) má dvě rozdílné části; adenohypofýzu (přední lalok) a neurohypofýzu (zadní lalok). Je uložena v prohlubni klínové kosti na bázi mozku (Reece, 2011).

Adenohypofýza obsahuje sekreční buňky, které na základě podnětu z hypotalamu prostřednictvím příslušných uvolňujících nebo inhibujících hormonů produkují hypofyzární hormony (Folikulostimulační hormon a luteinizační hormon) a uvolňují je do krve. Neurohypofýza obsahuje nemyelinizované konce axonů hypotalamových neurosekrečních buněk obklopené kapilární sítí. Dochází zde k uvolňování oxytocinu do krve (Doležel a Kudláč, 1997).

Vaječníky

Vaječníky vykazují dvě významné funkce, které jsou pro pohlavní aktivitu limitující. První funkce je germinativní, což představuje přítomnost a zrání zárodečných buněk ve folikulech. Druhá funkce je endokrinní, která zahrnuje produkci estrogenů ve folikulech a progesteronu ve žlutých těliscích (Doležel a Kudláč, 1997).

Děloha

Děloha se aktivně zúčastňuje řízení pohlavního cyklu produkcí prostaglandinu $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$), který způsobuje luteolýzu (regresi a zánik žlutého tělíska). Tímto účinkem se stává hlavním činitelem vnitřní kontroly délky pohlavního cyklu (Doležel a Kudláč, 1997).

$PGF2\alpha$ představuje biologicky aktivní metabolit vznikající z kyseliny arachidonové. Jeho hlavní produkce a uvolňování probíhá v endometriu. Signál k tvorbě a uvolňování $PGF2\alpha$ v pravidelných intervalech u cyklujícího zvířete není dosud dostatečně znám. Je pouze prokázáno, že uvolňování $PGF2\alpha$ předchází nepatrné zvýšení koncentrace estradiolu, jehož následkem je zmnožení receptorů pro oxytocin v endometriu a sekrece oxytocinu stárnoucím žlutým tělískem (Doležel a Kudláč, 1997). V novější literatuře se již dočteme, že oxytocin se tvoří v mozku a z tohoto důvodu ho mají i samci (Reece, 2011).

3.3.2 Hormony ovlivňující reprodukci samic

Gonadotropiny

Folikulostimulační hormon (FSH) a luteinizační hormon (LH) jsou společně nazývány gonadotropiny. FSH a LH jsou hormony secernované buňkami předního laloku hypofýzy a oba jsou klasifikovány jako glykoproteiny (Reece, 2011). FSH podporuje zrání folikulů. Podáním větší dávky hormonu lze dosáhnout tvorby nadměrně velkých Graafových folikulů, které však neovulují (Sova, 1981).

LH se uvolňuje z adenohipofýzy o několik dnů později než FSH. Děje se tak mechanismem zpětné vazby zprostředkované inhibinem jenž je produkován v ovariích po vazbě na membránové receptory (Trojan, 2003). Je důležitý pro ovulaci a luteinizaci granulózy, což je zásadní aspekt tvorby žlutého tělíska. Koncentrace estrogenů a progesteronu též ovlivňují velikost míru sekrece LH a FSH. Obecně platí, že zvyšování koncentrace estrogenů zapříčiňuje navýšení citlivosti předního laloku hypofýzy vůči LHRH (Luteinizing hormone-releasing hormone). LHRH je někdy nazýván jako gonadotropin releasing GnRH. Jedná se o hormon ovlivňující luteinizační hormon. To má za následek zvyšující se uvolňování gonadotropinů. Progesteron snižuje citlivost předního laloku hypofýzy vůči LHRH, přičemž koncentrace FSH a LH klesá. Tyto vlivy, zvláště estrogenů, závisí na jejich postupně se zvyšující koncentraci během cyklu. Tento vzrůst má za následek vzestup sekrece LH před ovulací (Reece, 2011).

Estrogeny

Estrogeny patří mezi steroidní hormony, které jsou produkovány vaječníky, placentou a kůrou nadledvin (Jelínek et al., 2003). 17β estradiol a estron jsou nejdůležitější převládající estrogeny u samic domácích zvířat, a sice estradiol u nebřezích a estron u březích samic (Reece, 2011).

Receptory (α , β) pro estrogeny jsou uloženy v cytosolu. Komplex receptor (protein) a navázaný hormon migruje do jádra buňky, kde působí na specifickou část DNA a prostřednictvím RNA navozuje proteosyntézu (Reece, 2011).

Estrogeny mají velké množství účinků. Troficky, růstově a diferenciačně ovlivňují specifické cílové buňky (například růst vnitřních pohlavních orgánů) (Trojan, 2003). Zvyšují sekreční aktivity děložních žláz, navozují sexuální chování, regulují uvolňování $PGF2\alpha$, tvorbu bílkovin, epitelotropní aktivitu a časně spojení epifýz s těly dlouhých kostí (Reece, 2011).

Gestageny (progesteron)

Gestageny jsou steroidní hormony, které se syntetizují ve žlutém tělísku vaječníků a kůře nadledvin. Za gravidity se syntetizují i v placentě a děloze. Fyziologicky nejúčinnější gestagenem je progesteron syntetizovaný ve žlutém tělísku (Jelínek, 2003).

Progesteron stimuluje rozvoj alveolů mléčné žlázy, ovlivňuje sekreci gonadotropinů (FSH a LH), snižuje kontraktilitu gravidní dělohy a hlavním významem je příprava a udržení těhotenství. Projevuje se hlavně vlivem na endometrium – přeměna na sekreční charakter sliznice nutný pro nidaci oplozeného vajíčka (Trojan, 2003).

Relaxin

Relaxin je secerován ve žlutém tělísku, děloze a placentě u březích samic. Jedná se o hormon vysoce gravidních samic, které připravuje na následný optimální průběh porodu. Významně přispívá k odvápnění pánevní spony, uvolnění pánevních vazů a rozšíření kanálku děložního krčku (Jelínek, 2003).

Prolaktin

Hlavním účinkem prolaktinu je stimulace laktace. V březosti připravuje mléčnou žlázu pro laktaci (Trojan, 2003). Tvorba mléka závisí na hladině hormonů v krvi v době porodu. Sekrece prolaktinu i ostatních laktogenních hormonů hypofýzy je aktivována určitou hladinou estrogenů.

Stimulační hladina estrogenů může být zbavena své laktogenní působnosti odpovídajícím množstvím progesteronu, takže během březosti podle vzájemné koncentrace těchto ovariálních hormonů je inhibována i laktace. K udržení zahájené sekreční činnosti mléčné žlázy a stálému vylučování prolaktinu a ostatních laktogenních hormonů adenohipofýzy do krevního oběhu, je nervově podněcováno drážděním bradavek (struků) při sání a dojení (Sova, 1981).

Melatonin

Melatonin se tvoří v době tmy. Syntetizuje se v mozku – epifýze a vzniká ze serotoninu. Tlumí sekreci adenohipofyzárních gonadotropinů (LH a FSH) a také somatotropinu (STH). Mimo jiné podporuje hojení ran a jejich zajištění (Jelínek, 2003). U některých druhů domácích zvířat (ovce, kozy) zvyšování tvorby melatoninu stimuluje pohlavní cyklus, naopak u jiných druhů (klisna, kočka) jej inhibuje. Takže připouštěcí sezóna u ovce a kozy nastupuje v době

zkracování světelného dne (podzim) a u klisny a kočky v době jeho prodlužování (jaro) (Doležel a Kudláč, 1997).

Androgeny

Hlavním místem produkce androgenů u samice jsou nadledviny. V ovariích se produkuje z celkového množství androgenů asi 40 %. U samic udržují libido a jsou prekurzory estrogenů (Trojan, 2003).

Společně s STH podporují růst v pubertě. Nadbytek androgenů vyvolává předčasnou pubertu a rychlejší zrání kostí (Jelínek, 2003).

Oxytocin

Oxytocin je uvolňován z neurohypofýzy jako výsledek neuroendokrinních reflexů a jeho aktivita je zaměřena na reprodukční procesy. Uvolnění oxytocinu a následné spuštění mléka je zapříčiněna sáním nebo jinou stimulací struku. Myometrium pod vlivem estrogenu reaguje více na podněty oxytocinu. To má za následek silnější kontrakce dělohy (Reece, 2011).

Prostaglandin (PGF2 α)

PGF2 α se syntetizuje v buňkách endometria, uplatňuje se při zániku žlutého tělíska a inhibuje sekreci progesteronu (Jelínek, 2003).

PGF2 α určuje délku pohlavního cyklu. Navozením luteolýzy současně umožňuje nástup nového pohlavního cyklu. Mechanismus účinku PGF2 α na luteální tkáň není dosud znám (Doležel a Kudláč., 1997).

3.3.3 Pohlavní (estrální) cyklus

Říjovým cyklem se rozumí soubor změn na pohlavních orgánech, v chování a celém organismu, které se pravidelně opakují (Jelínek, 2003). Pravidelnost říjových cyklů je ovlivněna mnoha zevními i vnitřními činiteli, jako jsou podnebí, světlo, výživný stav, stáří atd. Mohou nastat nejrůznější poruchy pohlavního cyklu, mezi které patří vynechání říje, její prodloužení nebo tzv. tichá říje (Sova, 1981). Podle četnosti výskytu estrálního cyklu v jednom roce se zvířata řadí mezi monoestrická, diestrická a polyestrická. Monoestrická mají říji jednou ročně a patří mezi ně většina divokých šelem. Feny mají říji obvykle dvakrát ročně a jsou tedy diestrická. Domácí zvířata jsou nejčastěji polyestrická (Reece, 2011).

Proestrus

Proestrus je fází předříjovou a trvá u samice skotu přibližně tři dny. Toto období je pod vlivem FSH uvolňovaného z adenohipofýzy. FSH vyvolává růst a zrání Graafova folikulu, v němž dochází k zvýšené tvorbě estrogenu (Sova, 1981).

Současně pod vlivem prostaglandinu $F2\alpha$ probíhá regrese žlutého tělíska z předcházejícího cyklu. Během proestrus převažuje hladina estrogenu (17β – estradiol) a dochází k prosáknutí sliznic, proliferaci žlázek, zvyšuje se dráždivost svalové vrstvy vývodných cest pohlavních, otevírá se děložní krček a začíná tvorba cervikálního hlenu. Hlavní psychickou změnou je zvýšená erotizace, projevy pohlavního pudu a celkově zvýšený neklid samice (Jelínek, 2003).

Estrus (vlastní říje)

Období vlastní říje je charakterizováno dozráváním folikulů, dokončením proliferačních změn na pohlavním ústrojí a dostavuje se svolnost k páření. Vyvrcholením říje, vyvolané krátkodobým působením luteinizačního hormonu (LH), je dozrání folikulů a jejich ovulace. Jedná se o prasknutí stěny folikulu, vyplavení vajíčka a jeho přechod do vejcovodu (Jelínek, 2003).

Dále můžeme pozorovat řadu změn v činnosti jiných orgánů. Například se mění složení krve či množství a vlastnosti mléka (Sova, 1981). U většiny zvířat je ovulace spontánní a dostavuje se bez ohledu na to, zda se samice pářila či ne (Jelínek, 2003).

Ovulace u skotu trvá 12–36 hodin a zahrnuje první až druhý den pohlavního cyklu. Po porodu se říje objevuje za 4–10 týdnů (Sova, 1981). U kočky a králice je provokovaná ovulace vyvolána podrážděním nervových zakončení v poševní stěně při páření. S ovulací

rychle mizí příznaky říje a na místě prasklých folikulů se začínají vytvářet žlutá tělíska (Jelínek, 2003).

Metestrus

Období po říji je charakterizováno zvýšeným odtokem krve z oblasti pohlavního ústrojí a zánikem edematózního zduření (Jelínek, 2003). Zvíře je tedy pod vlivem LH umožňujícím ovulaci (u krávy za 6–14 hodin po odeznění příznaků říje) (Sova, 1981).

Na místě prasklého folikulu se vyvíjí jedno nebo více žlutých tělísek, v nichž začíná produkce progesteronu. Žluté tělísko je tvořeno luteinovými buňkami, které obsahují barvivo lutein. To propůjčuje tělísku barvu od červenooranžové do zlatožluté až po bíložlutou. Lutein není přítomen u prasnice a malých přežvýkavců. Žluté tělísko se vyvíjí do stádia rozkvětu, kdy má největší produkci progesteronu (Jelínek, 2003).

Diestrus

Charakterizován jako období mezi říjemi a dokončením vývoje žlutého tělíska. Osud žlutého tělíska je závislý na tom, zda došlo k zabřeznutí či nikoliv (Jelínek, 2003). Z hlediska klinických příznaků jde o klidovou fázi pohlavního cyklu (Doležel a Kudláč., 1997).

Nedojde-li k zabřeznutí, endometrium začíná kolem 15. dne produkovat prostaglandin, který vyvolá regresi žlutého tělíska, přeruší se produkce progesteronu, a tak je umožněn vývoj dalšího pohlavního cyklu. Pokud dojde k zabřeznutí, žluté tělísko zůstává na vaječnicích a dále produkuje hormon progesteron, také garantuje nerušený vývoj embrya a plodu až do porodu (Jelínek, 2003).

3.4 Vliv fytoestrogenů na reprodukci samic

Z výsledků studií provedených na zvířatech vyplývá, že fytoestrogeny mohou významně ovlivnit reprodukční zdraví zvířat i lidí. A ačkoliv bylo na lidech provedeno poměrně malé množství studií, jsou zjištěné výsledky srovnatelné s pokusy provedenými na zvířatech, i při zohlednění mezidruhových odlišností. Účinky fytoestrogenů se odvíjejí od druhu, způsobu užití a zejména na načasování s ohledem na kritické periody vývoje (Jefferson et al., 2011).

3.4.1 Morfologické změny v reprodukční soustavě

Fytoestrogeny dramaticky mění vývoj samičího reprodukčního ústrojí. U myší vystavených genisteinu v novorozeneckém období (1. - 5. den života) došlo k narušení morfogeneze vejcovodů změnou exprese genů, signálních drah a vlivem dalších transkripčních faktorů. Výsledkem je exprese genů vejcovodu obvykle pozorované pouze v dolních oblastech reprodukčního traktu, tedy v krčku a vagině (Jefferson et al., 2011). Kromě toho bylo mikročipovou analýzou zjištěno, že exprese zánětlivých markerů, z nichž je mnoho regulováno hormonálně. To může vést k narušení reakcí slizniční ovidukální imunity během březosti, které může ovlivnit embryonální přežití a vývoj (Jefferson et al., 2011).

Aplikací kumestrolu se zjistilo, že novorozeným potkanům způsobuje brzké vaginální otevření a zvýšení hmotnosti dělohy s jejím následných poklesem v dospělosti. Podání kumestrolu v pozdějším (věku 10 – 14 dní) po narození, tedy v kritické době pro správnou morfogenezi žláz, a v dospělosti bylo u těchto zvířat pozorováno méně endometriálních žláz a exprese ER byla redukována (Medlock et al., 1994).

Ve většině provedených studií byly potvrzeny myšlenky, že krátké působení fytoestrogenů během vývojově citlivého období, může mít trvalé účinky na děložní morfologii a funkce. Vystavení organismu fytoestrogenům během vývoje často pozitivně koreluje s výskytem rakoviny dělohy; u 35 % myší starších 18 měsíců, které byly neonatálně vystavené genisteinu, byl zaznamenán zvýšený výskyt rakoviny dělohy (Newbold et al., 2001). Proti této studii se staví jiná, která naopak při novorozeneckém působení fytoestrogenů prokázala pozitivní účinky na snížení výskytu rakovinu dělohy u myší (Begum et al., 2006).

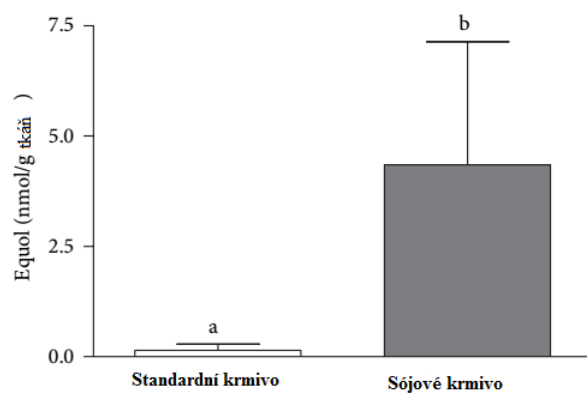
Fytoestrogeny jsou schopné během vývoje jedince vyvolat také epigenetické změny, které se projeví vývojem abnormálního fenotypu. Zachovávají se i v dospělosti a mohou být přeneseny do další generace (Jefferson et al., 2012).

3.4.2 Vliv fytoestrogenů na hladinu hormonů

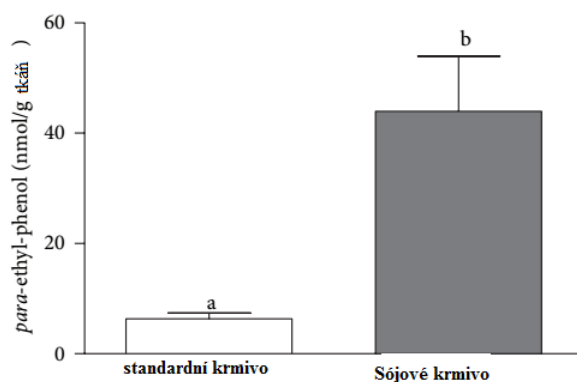
Fytoestrogeny jsou schopné ovlivnit působení hormonů v organismu samic a tím vyvolat změny v jejich účinku. Vyšší koncentrace fytoestrogenů a jejich aktivních metabolitů (equol a para-ethyl-phenol) byly nalezeny v tkáních žlutého tělíska odebraných z vaječníků jalovic krmených sójovou stravou ve srovnání se zvířaty, kterým bylo podáváno standardní krmivo (viz. OBR.8). Tyto vyšší koncentrace fytoestrogenních metabolitů u jalovic byly spojené s nižší koncentrací progesteronu v porovnání s jalovicemi krmenými standardním krmivem. Autoři této studie předpokládali, že vysoké koncentrace metabolitů přítomné ve žlutém tělísku přímo tlumí sekreci progesteronu (Piotrowska et al., 2006).

To, že fytoestrogenní metabolity mohou narušit funkci žlutého tělíska a vyvolat různé poruchy během rané březosti zahrnující i časnou embryonální mortalitu, zjistil již Shore et al. (1998). Nicméně aktivní metabolity fytoestrogenů nemají vliv na základní produkci progesteronu *in vitro*. Experimenty prováděné na bovinních buňkách žlutého tělíska izolovaných z pozdní luteální fáze říjového cyklu ukazují, že aktivní fytoestrogenní metabolity stimulují pouze luteolytické látky produkující PGF 2α a testosteron (Woclawek – Potocka et al., 2006). Vliv fytoestrogenů a jejich aktivních metabolitů na progesteron není přímý. Závisí na schopnosti fytoestrogenů omezit LH a PGF 2α stimulující produkci progesteronu (viz. OBR. 9) (Woclawek – Potocka et al., 2006).

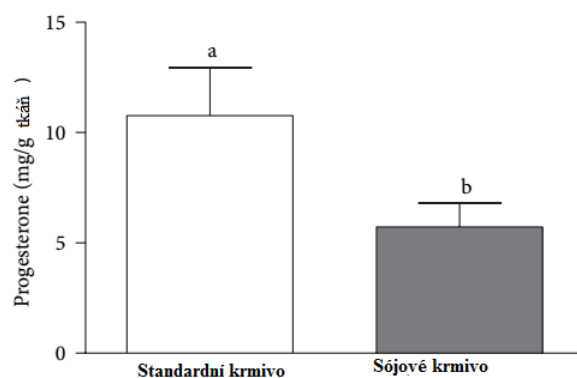
V *in vitro* experimentu Woclawek – Potocka et al. (2005) se fytoestrogenní metabolity (equol a para-ethyl-phenol) ukázaly jako látky se silnějšími endokrinně disruptivními účinky než samotné fytoestrogeny. Fytoestrogeny a jejich metabolity výrazně zvýšily produkci PGF 2α a mírně PGE 2 během luteální fáze říjového cyklu (Woclawek – Potocka et al., 2005).



(a)



(b)



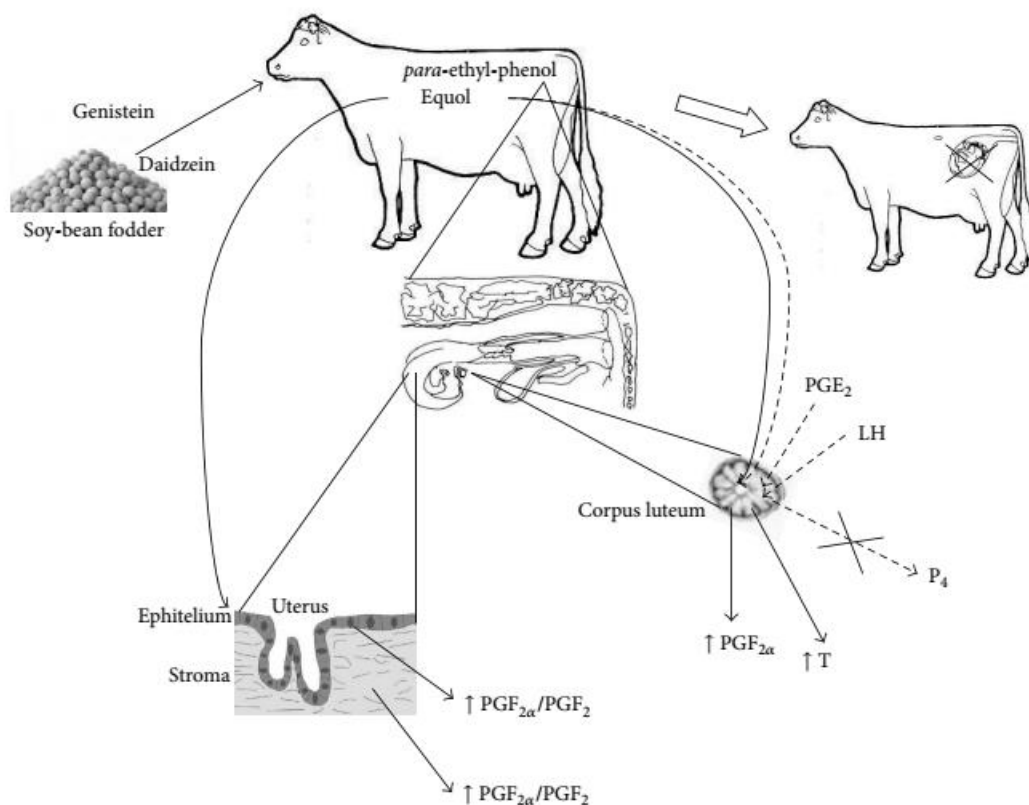
(c)

OBR. 8: Koncentrace equolu, para-ethyl-phenolu a progesteronu v tkáni žlutého tělíska u krav kmených sójovým krmivem v porovnání se standardní krmnou dávkou.

Převzato z (Piotrowska et al., 2006)

Sójové fytoestrogeny přednostně stimulovaly $\text{PGF}_{2\alpha}$ během luteální fáze říjového cyklu a jejich silná stimulace ve srovnání s produkcí PGE_2 způsobila negativní účinky v endometriu krávy. Tyto účinky mohou být jedním z důvodů časně embryonální mortality a potratů. Nicméně pokud zvířata nejsou březí, ale nachází se v říjovém cyklu tato přednostní stimulace $\text{PGF}_{2\alpha}$ může mít pozitivní účinky na mechanismus zodpovědný za luteolýzu a návrat zvířat do cyklu a schopnosti ovulace. Fytoestrogeny a jejich metabolity se chovají jako endogenní estrogény v době luteolýzy a ovulace a mohou zesílit návrat krav do cyklu po porodu (Woclawek – Potocka et al., 2005).

Fytoestrogeny jsou také schopné inhibovat endogenní produkci estrogenu ve vaječnících, regulaci vývoje folikulů a vynechání říje (Woclawek – Potocka et al., 2013).



OBR. 9: Možné účinky fytoestrogenů na jednotlivé části reprodukční soustavy krávy. LH – luteinizační hormon, P_4 – progesteron, PGE_2 – prostaglandin E_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ – prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$, T – testosteron

Převzato z (Woclawek – Potocka et al., 2013)

3.4.3 Změny v estrálním cyklu

Účinky fytoestrogenů na hospodářská zvířata jsou opravdu závažné. Mají schopnost vyvolat jak estrogenní, tak antiestrogenní účinek, abnormality reprodukčního ústrojí i změny v říjovém cyklu (Opletal a Šimerda, 2010).

Fytoestrogeny ovlivňují také některé parametry spojené s estrálním cyklem, například tělesnou teplotu během cyklu. V experimentu provedeném na potkanech byl sledován vliv fytoestrogenů na tělesnou teplotu během estrálního cyklu. Fyziologicky je u samic nejnižší tělesná teplota v proestru a klesá až do fáze diestru. U samic krmených potravou bohatou na fytoestrogeny se projeví podobné změny teplot během estrálního cyklu jako při působení přirozených estrogenů. Potkani krmeni stravou bohatou na fytoestrogeny vykazovali mírně nižší tělesnou teplotu v porovnání s potkany krmenými krmivem bez fytoestrogenů. Vzhledem k tomu, že fytoestrogeny mají lepší afinitu k ER β než k ER α (Murkies et al., 1998), se můžeme domnívat, že rozložení jednotlivých podtypů ER v hypothalamu může hrát roli v oblasti termoregulace, případně mohou hrát roli i jiné faktory například exprese progesteronového receptoru (Tsai et al., 1992).

3.4.4 Vliv fytoestrogenů na oocyty

Prenatální vývoj samičích zárodečných buněk má naprosto rozhodující vliv na reprodukční zdraví samice, protože se jedná o dobu, kdy jsou nové dceřiné buňky utvářeny. Zránění oocytů, oplození a embryonální vývoj jsou složité procesy, během kterých může chemické poškození vést k vývojovým problémům nebo embryonální malformaci (Chan, 2009).

Vliv fytoestrogenů na savčí oocyty byl opakovaně studován. V pokusu Vodková et al. (2008) byl u genisteinu (GNT) popsán negativní vliv na průběh meiotického zránění oocytů prasete. Docházelo k inhibici jaderného zránění oocytů po 48 hodinách kultivace *in vitro* do II. meiotického zránění a došlo mj. k redukci oocytů s vyděleným pólovým tělískem. Prasečí oocyty ve stadiu první meiotické metafáze byly kultivovány v médiu s přidavkem tří různých dávek GNT po 24 h a dalších 24 h bez GNT. GNT zablokoval zránění prasečích oocytů ve stadiu zárodečného vajíčku v závislosti na dávce. Poté byly oocyty přesunuty do čistého média a meiotické zránění oocytů se obnovilo, nicméně 32 % oocytů vykazovalo abnormality

v metafázní figuře. Zároveň GNT inhiboval expanzi kumulárních buněk přímo úměrně k dávce (Vodková et al., 2008). V této studii také pozorovali účinky jiného fytoestrogenu, genistinu (GIN), na meiotické zrání oocytů prasete *in vitro*. Bylo zjištěno, že GIN stejně jako GNT blokuje rozpad zárodečného váčku. Nicméně tento účinek by prokazatelně nižší než při působení samotného GNT (Vodková et al., 2008). Při zvyšující se koncentraci GIN se snížilo množství oocytů blokových ve fázi zárodečného váčku, ale oproti tomu byl vyšší výskyt abnormalit v metafázní figuře (Vodková et al., 2008).

Podobné výsledky byly pozorovány i u myších oocytů. Chan (2009) ve své studii měřil účinky GNT na zrání oocytů, oplození schopnost a vývoj embrya v *in vitro* podmínkách u myši. Celkový počet oocytů v kontrolní skupině bez přídavku GNT, které dosáhly metafáze II po *in vitro* zrání činil přibližně 97 %. Bylo zjištěno, že GNT (1, 5, 10 μM) inhibuje meiotické zrání oocytů myši v závislosti na koncentraci látky. U nejvyšší použité koncentrace GNT dosáhlo přibližně jen 60 % oocytů stadia MII. Tyto dávky byly podávány tak, aby přibližně odpovídaly množství GNT přijatému v potravě.

Experimenty *in vitro* prokázaly, že GNT snižuje také schopnost oplození oocytů myši a formaci prvojader. Dále Chan (2009) zjistil, že GNT inhibuje embryonální vývoj od stádia dvoubuněčného až do stádia blastocysty. Studie tedy ukázala, že GNT indukuje apoptózu v průběhu embryonálního vývoje, snižuje počet buněk, zpomaluje časný postimplantační vývoj, a podporuje v raném stadiu smrt myších blastocyst *in vitro* i *in vivo* (Chan, 2009).

Kromě toho výsledky vysokoúčinné kapalinové chromatografie ukázaly, že myši samice pijící vodu obsahující 10 μM GNT po dobu 4 dní mají hladinu GNT v krevním séru v rozmezí 3,89 - 4,17 μM (Chan, 2009).

GNT může být tedy rizikový faktor pro snížení hodnot embryonálního vývoje prostřednictvím inhibice zrání oocytů a oplodnění, proliferace trofoblastu buněk a produkce hCG, inaktivace tyrosin kináz, a indukce apoptózy buněk. Expozice GNT během senzitivních vývojových period vede ke změnám reprodukčních funkcí a plodnosti (Chan, 2009).

Byla provedena řada dalších studií, ve kterých se prokázalo, že i u dalších fytoestrogenů můžeme pozorovat negativní účinky na savčí oocyty. Podle zjištěných dat také biochanin A (BIO A) a daidzein (DAI) inhibují meiotické zrání prasečích oocytů *in vitro* (Hošková et al., 2014), podobně jako GNT (Vodková et al., 2008). Sledovány byly účinky těchto fytoestrogenů na jaderné zrání oocytů a expanzi kumulárních buněk, důležité markery kvality meiotického zrání oocytů. Oba fytoestrogeny projevily inhibiční účinky na jaderné zrání stejně jako na expanzi kumulárních buněk oocytů (Hošková et al., 2014).

V závislosti na dávce BIO A a DAI docházelo ke zvýšení počtu abnormálních metafázních konfigurací, které byly manifestovány především v nerovnoměrné distribuci chromozomů, duplikaci chromozomálních setů, nebo úplné absenci chromozomů. V této studii dále zjistili, že DAI se také projevuje negativními účinky na jaderné zrání oocytů (Hošková et al., 2014).

Rozdíl mezi BIO A a DAI je v jejich intenzitě negativního účinku na meiotické zrání. Specifické působení fytoestrogenů na oocyty může být způsobeno rozdílným účinkem, různou afinitou k ER nebo rozdílnou cílovou strukturou, protože jejich mechanismus není zatím zcela objasněn (Hošková et al., 2014).

V porovnání s BIO A má GEN vyšší afinitu k ER a zároveň estrogení aktivitu. Je proto zajímavé, že BIO A inhiboval jaderné zrání více než GEN ve srovnatelných koncentracích. Je známo, že GEN inhibuje meiotické zrání oocytů ve fázi G2/M buněčného cyklu a je mu často připisován inhibiční účinek na proteinkinázy (Vodková et al., 2008).

4 Závěr

Celá problematika působení fytoestrogenů, ale celkově endokrinních disruptorů na organismus, je sama o sobě složitá. Fytoestrogeny jsou nejčastěji spojovány s poruchami reprodukce zvířat i lidí. I v dnešní době je mnoho mechanismů, které nejsou zcela objasněny. Z doposud známých informací z této oblasti je jisté, že estrogení látky primárně působí skrz estrogenové receptory, které se nacházejí na plazmatické membráně či v cytosolu buněk.

Fytoestrogeny ovlivňují celou reprodukční soustavu, včetně samotných gamet. Brání zrání oocytů ve fázi zárodečného vajíčka a inhibují expanzi zárodečných buněk. Genistein inhibuje zrání myších oocytů, oplodnění a embryonální vývoj. Mezi další účinky genisteinu patří indukce apoptózy během embryonálního vývoje, snížení počtu buněk, zpomalení časného postimplantačního vývoje, a dokonce smrt myších blastocyst *in vitro* i *in vivo*. Negativní účinky potvrdily také studie o biochaninu A a daidzeinu. Oba tyto fytoestrogeny inhibovaly meiotické zrání oocytů prasete, podobně jako genistein. Ovšem pro prokázání jasných výsledků a utvoření jednotného závěru bude nutné provést ještě několik studií.

5 Seznam literatury

Bechtel, R. B. Dioxin. Salem Press Encyclopedia [online]. 2016 [cit. 21. února 2017]. Dostupné z <<http://infozdroje.czu.cz/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ers&AN=89474097&lang=cs&site=eds-live>>.

Begum, M., Tashiro, H., Katabuchi, H., Suzuki, A., Kurman, R. J., Okamura, H. 2006. Neonatal estrogenic exposure suppresses PTEN-related endometrial carcinogenesis in recombinant mice. Laboratory investigation. 86 (3). 286-296.

Bell, K. M., Rutherford, S. M., Hendriks, W. H. 2010. Exposure of growing and adult captive cheetahs (*Acinonyx jubatus*) to dietary isoflavones: twenty years later. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 94 (6). E329 – E338.

Benassayag, C., Perrot-Appanat, M., Ferre, F. 2002. Phytoestrogens as modulators of steroid action in target cells. Journal of Chromatography B. 777 (1). 233-248.

Brown, N. M, Setchell, K. D. 2001. Animal models impacted by phytoestrogens in commercial chow: implications for pathways influenced by hormones. Laboratory Investigation; A Journal Of Technical Methods And Pathology. 81 (5). 735-47.

Bruckner, J. V. 2000. Differences in sensitivity of children and adults to chemical toxicity: the NAS panel report. Regulatory toxicology and pharmacology. 31 (3). 280-285.

Caserta, D., Maranghi, L., Mantovani, A., Marci, R., Maranghi, F., Moscarini, M. 2008. Impact of endocrine disruptor chemicals in gynaecology. Human reproduction update. 14 (1)59-72.

Coyne, M. Polychlorinated biphenyls (PCB). Salem Press Encyclopedia [online]. 2016 [cit. 20. února 2017].

Dostupné z <<http://infozdroje.czu.cz/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ers&AN=89474370&lang=cs&site=eds-live>>.

Crosby, G.A. 2005. Lignans in food and nutrition. Food technology. 5 (5). 59.

- Červený, Č. 2011. Vademecum anatomie domácích savců pro studium a veterinární praxi – splachnologia. Brázda. Praha. 272 s. ISBN: 978-80-209-0389-1.
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J. P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins G. S., Soto, A.M., Zoeller, R. T., Gore, A. C. 2009. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocrine Reviews*. 30 (4). 293-342.
- Doležel, R., Kudláč, E. (eds.) 1997. Veterinární gynekologie. 2. vydání. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno. 263 s. ISBN 978-80-7305-761-9.
- Gray, C. A., Bartol, F. F., Tarleton, B. J., Wiley, A. A., Johnson, G. A., Bazer, F. W., Spencer, T. E. 2001. Developmental Biology of Uterine Glands. *Biology of reproduction*. 65 (5). 1311-1323.
- Grignard E., Lapenna S., Bremer S. 2012. Weak estrogenic transcriptional activities of Bisphenol A and Bisphenol S. *Toxicology in Vitro*. 26 (5). 727–731.
- Heudorf, U., Mersch-Sundermann, V., Angerer, J. 2007. Phthalates: Toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 210 (5). 623–634.
- Hošková, K., Křivohlávková, L., Kadlečková, L., Rajmon, R., Drábek, O., Jílek, F. 2014. Biochanin a and Daidzein Influence Meiotic Maturation of Pig Oocytes in a Different Manner. *Scientia agriculturae bohemia*. 45 (3). 155-161.
- Hrubá, D. 2009. Endokrinní disruptory. *Hygiena*. 54 (1). 23- 26.
- Husic, D. W., Kähler, K. N. Dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT). Salem Press Encyclopedia [online]. 2016 [cit. 20. února 2017].
Dostupné z <<http://infozdroje.czu.cz/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ers&AN=89474096&lang=cs&site=eds-live>>.
- Chan, W. H. 2009. Impact of genistein on maturation of mouse oocytes, fertilization, and fetal development. *Reproductive Toxicology*. 28 (1). 52-58.

Jefferson, W. N., Padilla-Banks, E., Phelps, J. Y., Gerrish, K. E., Williams, C. J. 2011. Permanent Oviduct Posteriorization after Neonatal Exposure to the Phytoestrogen Genistein. *Environmental Health Perspectives*. 119 (11). 1575.

Jefferson, W. N., Patisaul, H. B., Williams, C. J. 2012. Reproductive consequences of developmental phytoestrogen exposure. *2012 Reproduction*. 143 (3). 247-260.

Jelínek, P., Koudela, K., Doskočil, J., Illek, J., Kotrbáček, V., Kovářů, F., Kroupová, V., Kučera, M., Kudláč, E., Trávníček, J., Valent, M. 2003. *Fyziologie hospodářských zvířat*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno. 409 s. ISBN 80-715-7644-1.

Kalač, P., Míka, V. 1997. *Přirozené škodlivé látky v rostlinných krmivech*. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 317s. ISBN 8085120968.

König, H. E., Liebich, H. G. 2002. *Anatomie domácích savců 2. díl: Splanchnologie, cévní a nervová soustava*. Hajko, Hajková. Bratislava. 416 s. ISBN: 80-88700-57-4.

Kunimatsu T, Yamada T, Miyata K, Yabushita S, Seki T, Okuno Y, Matsuo M. 2004. Evaluation for reliability and feasibility of the draft protocol for the enhanced rat 28-day subacute study (OECD Guideline 407) using androgen antagonist flutamide. *Toxicology*. 200 (1). 77-89.

Lang, I. A., Galloway, T. S., Scarlett, A., Henley, W. E., Depledge, M., Wallace, R. B., & Melzer, D. 2008. Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *Jama*. 300(11). 1303-1310.

Lee, M. M. 2007. Endocrine disrupters. *A Current Review of Pediatric Endocrinology*. 109-118.

Lundh, T. O., Pettersson, H. I., Martinsson, K. A. 1990. Comparative levels of free and conjugated plant estrogens in blood plasma of sheep and cattle fed estrogenic silage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38 (7). 1530-1534.

Lundh T. 1995. Metabolism of estrogenic isoflavones in domestic animals. Proceedings Of The Society For Experimental Biology And Medicine. Society For Experimental Biology And Medicine (New York, N.Y.). 208 (1). 33-9.

Marvan, F., Hampl, A., Hložánková, E., Kresan, J., Massanyi, I., Vernerová, E. 2011. Morfologie hospodářských zvířat. Brázda, s.r.o. Praha 328 s. ISBN: 978-80-213-2188-5.

Matthews, G. A. 2006. Pesticides: Health, Safety and the Environment. 1 - 235.

Medlock, K. L., Forrester, T. M., Sheehan, D. M. 1994. Progesterone and estradiol interaction in the regulation of rat uterine weight and estrogen receptor concentration. Experimental Biology and Medicine. 205(2). 146-153.

Moravcová, J., Kleinová, T. 2002. Phytoestrogeny ve výživě – přinášejí užitek nebo riziko? Chemické listy. 96 (5). 282-289.

Murkies, A. L., Wilcox, G., Davis, S. R. 1998. Phytoestrogens 1. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 83 (2). 297-303.

Najbrt, R. (ed.) 1982. Veterinární anatomie 2. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 596 s. ISBN: 07-006-82.

Newbold, R. R., Banks, E. P., Bullock, B., & Jefferson, W. N. 2001. Uterine adenocarcinoma in mice treated neonatally with genistein. Cancer Research. 61 (11). 4325-4328.

Okuda, K., Miyamoto, Y., Skarzynski, D. J. 2002. Regulation of endometrial prostaglandin F_{2α} synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. Domestic animal endocrinology. 23 (1). 255-264.

Olle, D. A. Isoflavones. Salem Press Encyclopedia of Health [online]. 2017 [cit. 15. února 2017].

Dostupné z <<http://infozdroje.czu.cz/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ers&AN=94462186&lang=cs&site=eds-live>>.

Opletal, L., Šimerda, B. Flavanoidy ve výživě zvířat [online]. (n.d.). [cit. 20. února 2017]. Dostupné z <<http://www.vuzv.cz/old/vyziva/studie29.pdf>>.

Opletal, L., Šimerda, B. 2010. Přírodní látky a jejich biologická aktivita. 4. Fytoestrogeny přírodního původu, výskyt v krmivovém (potravním) řetězci, pozitivní a negativní účinky. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha. 60 s. ISBN 978-80-7403-067-3.

Phillips K. P., Foster W.G. 2008. Key developments in endocrine disrupter research and human health. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 11, 322-344.

Piotrowska, K. K., Woclawek-Potocka, I., Bah, M. M., Piskula, M. K., Pilawski, W., Bober, A., Skarzynski, D. J. 2006. Phytoestrogens and their metabolites inhibit the sensitivity of the bovine corpus luteum to luteotropic factors. *The Journal of reproduction and development*. 52 (1). 33-41.

Reece, W. O. 2011. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. Grada Publishing, a.s. Praha. 480 s. ISBN 978- 80- 247- 3282- 4.

Reinli, K., Block, G. 1996. Phytoestrogen content of foods – a compendium of literature values. *Nutrition and Cancer*. 26 (2). 123–148.

Reppert-Bismarck, J. 2010. EU to ban Bisphenol A in baby bottles in 2011. *Romanian Journal of Medical Practice*. 5 (4). 296-296.

Richer, A. C. Resveratrol. Salem Press Encyclopedia of Health [online]. 2017 [cit. 20.února 2017].

Dostupné z <<http://infozdroje.czu.cz/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ers&AN=94462419&lang=cs&site=eds-live>>.

Rogan, W. J., Ragan, N. B. 2003. Evidence of effects of environmental chemicals on the endocrine system in children. *Pediatrics*. 112 (1). 247 - 252.

Serrano, S. E., Braun, J., Trasande, L., Dills, R., Sathyanarayana, S. 2014. Phthalates and diet: a review of the food monitoring and epidemiology data. *Environmental Health*. 13 (1). 43.

Shanle, E. K., Xu, W. 2011. Endocrine Disrupting Chemicals Targeting Estrogen Receptor Signaling: Identification and Mechanisms of Action. *Chemical research in toxicology*. 24 (1). 6-19.

Shore, L. S., Rios, C., Marcus, S., Bernstein, M., Shemesh, M. 1998. Relationship between peripheral estrogen concentrations at insemination and subsequent fetal loss in cattle. *Theriogenology*. 50 (1). 101-107.

Schwartz, H., Sontag, G., Plumb, J. 2009. Inventory of phytoestrogen databases. *Food chemistry*. 3 (3). 113.

Singleton D.W., Sohaib A.K. 2003. Xenoestrogen exposure and mechanisms of endocrine disruption. *Front Biosci*. 8. 110–118.

Skarzynski, D. J., Okuda, K. 2000. Different actions of noradrenaline and nitric oxide on the output of prostaglandins and progesterone in cultured bovine luteal cells. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 60 (1). 35-47.

Slíva, J. 2009. Mechanismus účinku fytoestrogenů. *Medi News Časopis Lékaře*. 4. 24-24.

Sosvorová, L., Bičíková, M., Káňová, N., Lapčík, O. 2010. Fytoestrogeny a menopauza. *DMEV*. 13 (3). 135-138.

Sova, Z. 1981. *Fyziologie hospodářských zvířat*. SZN, Praha. 511s. ISBN 80-209-0092-6.

Stark A, Madar Z. 2002. Phytoestrogens: a review of recent findings. *Journal Of Pediatric Endocrinology*. 15 (5). 561-72.

Trojan, S. 2003. *Lékařská fyziologie*. Grada Publishing, a.s. Praha. 772 s. ISBN 80- 247- 0512-5.

Tsai, C. L., Kanosue, K., Matsumura, K. 1992. Effects of estradiol treatment on responses of rat preoptic warm sensitive neurons to progesterone in vitro. *Neuroscience letters*. 136(1). 23-26.

Ünüvar, T., Büyükgebiz, A. 2012. Fetal and Neonatal Endocrine Disruptors. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 4 (2). 51-60.

Usui, T. 2006. Pharmaceutical prospects of phytoestrogens. *Endocrine journal- Tokyo*. 53 (1). 7-20.

Vandenberg, L. N., Maffini, M. V., Sonnenschein, C., Rubin, B. S., & Soto, A. M. 2009. Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocrine reviews*. 30 (1). 75-95.

Vandenberg, L. N., Colborn, T., Hayes, T. B., Heindel, J. J., Jacobs Jr, D. R., Lee, D. H., Zoeller, R. T. 2012. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocrine reviews*. 33 (3). 378-455.

Van Maele-Fabry, G., Lantin, A. C., Hoet, P., Lison, D. 2010. Childhood leukaemia and parental occupational exposure to pesticides: a systematic review and meta-analysis. *Cancer causes*. 21 (6). 787-809.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin*. Rozšířené. a přepracované 3. vyd. OSSIS. Tábor. 580 s. ISBN 978-80-86659-15-2.

Vodková, Z., Rajmon, R., Petr, J., Klabanová, P., Jílek, F. 2008. Effects of genistein and genistin on in vitro maturation of pig oocytes. *Czech Journal of Animal Science*. 53 (1). 1.

Vrzáňová, M., Heresová, J. 2005 J. *Fytoestrogeny*. *Medicína pro praxi*. 2 (1). 19-21.

Weems, Y. S., Lammoglia, M. A., Vera-Avila, H. R., Randel, R. D., Sasser, R. G., Weems, C. W. 1998. Effects of Luteinizing Hormone (LH), PGE₂, 8-Epi-PGE₁, 8-Epi-PGF₂ α, Trichosanthin and Pregnancy Specific Protein B (PSPB) on Secretion of Prostaglandin (PG) E (PGE) or F₂ α (PGF₂ α) In Vitro by Corpora Lutea (CL) From Nonpregnant and Pregnant Cows. *Prostaglandins and other lipid mediators*. 55 (5). 359-376.

WHO. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. [online]. 2002 [cit. 20. února 2017]. Dostupné z <http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/>.

Woclawek-Potocka, I., Bah, M. M., Korzekwa, A., Piskula, M. K., Wiczowski, W., Depta, A., Skarzynski, D. J. 2005. Soybean-derived phytoestrogens regulate prostaglandin secretion in endometrium during cattle estrous cycle and early pregnancy. *Experimental Biology and Medicine*. 230 (3). 189-199.

Woclawek-Potocka, I., Bober, A., Korzekwa, A., Okuda, K., Skarzynski, D. J. 2006. Equol and para-ethyl-phenol stimulate prostaglandin F₂α secretion in bovine corpus luteum: intracellular mechanisms of action. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 79 (3). 287-297.

Woclawek-Potocka, I., Piskula, M. K., Bah, M. M., Siemieniuch, M. J., Korzekwa, A., Brzezicka, E., Skarzynski, D. J. 2008. Concentrations of isoflavones and their metabolites in the blood of pregnant and non-pregnant heifers fed soy bean. *J Reprod Dev*. 54 (5). 358-363.

Wocławek-Potocka, I., Mannelli, C., Boruszewska, D., Kowalczyk-Zieba, I., Waśniewski, T., Skarżyński, D. J. 2013. Diverse effects of phytoestrogens on the reproductive performance: cow as a model. *International journal of endokrinology*. 2013.

Xu, X., Duncan, A.M., Wangen, K.E., Kurzer, M.S. 2000. Soy consumption alters endogenous estrogen metabolism in postmenopausal women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers*. 9 (8). 781-786.

Žalmanová, T., Hošková, K., Nevoral, J., Prokešová, Š., Zámotná, K., Kott, T., Petr, J. 2016. Bisphenol S instead of bisphenol A: a story of reproductive disruption by regrettable substitution—a review. *Czech Journal of Animal Science*. 61 (10). 433-449.