

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Efekty endokrinně disruptivních látek v reprodukci samic

Bakalářská práce

Autor práce: Michaela Příhodová

Obor studia: Speciální chovy

Vedoucí práce: Ing. Kristýna Hošková, Ph. D

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Efekty endokrinně disruptčních látek v 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Kristýně Hoškové, Ph. D., za vedení mé bakalářské práce a za cenné rady a připomínky.

Efekty endokrinně disruptivních látek v reprodukci samic

Souhrn

V této práci je pojednáváno o problematice endokrinních disruptorů a jejich vlivu na reprodukci samic, konkrétně hospodářských zvířat. Společnou vlastností těchto látek je schopnost narušovat hormonální řízení organismu. Může se jednat o sloučeniny syntetického nebo přírodního původu. Mezi nejznámější syntetické endokrinní disruptory patří bisfenol A, který je používán při výrobě plastových hmot a epoxidových pryskyřic. Dále sem patří například pesticidy používané na ochranu rostlin proti škůdcům, či ftaláty, látky využívané jako změkčovadla plastů. Endokrinní disruptory rostlinného původu se dělí na fytoestrogeny a mykotoxiny. Fytoestrogeny jsou látky vyskytující se jako přirozené součásti některých rostlin, nejvíce v luštěninách, a patří mezi ně izoflavony, kumestany a lignany. Mykotoxiny jsou sekundární produkty plísní, z nichž nejznámější je zearalenon.

Tyto výše uvedené látky mají vliv zejména na reprodukční soustavu. Pohlavní soustava samic je tvořena vaječníky, vejcovody, dělohou, pochvou, poševní předsíní a vulvou. Funkce pohlavních orgánů jsou řízeny neurohormonálně pomocí zpětnovazebných mechanismů na ose hypotalamus-hypofýza-vaječníky. Takto je řízen i pohlavní cyklus, soubor periodicky se opakujících změn na reprodukčních orgánech samice.

Endokrinní disruptory mohou různými mechanismy působit na všechny úrovně této osy a jednotlivé orgány. Způsobují různé vývojové abnormality v anatomii reprodukčních orgánů a jejich funkční vady. K narušení může dojít jak prenatálně, tak postnatálně. Hlavním cílem těchto látek jsou vaječníky, kde mohou narušovat vývoj oocytů, což má dopad zejména na plodnost samic. Dále mají vliv na pohlavní cyklus, březost a její udržení, mohou způsobovat i různá onemocnění jako například syndrom polycystických vaječníků či rakovinu pohlavních cest. Byl u nich prokázán vliv i na jiné soustavy. Narušují imunitní systém, podílejí se na rozvoji metabolických onemocnění, např. obezity, diabetu a mnoha dalších zdravotních komplikací.

Klíčová slova: Endokrinní disruptory, hormony, bisfenol A, pesticidy

Effects of endocrine disruptive substances in reproduction of females

Summary

This work discusses the issue of endocrine disruptors and their effect in reproduction of females, specifically of farm animals. A common feature of these substances is the ability to disrupt hormones control of the organism. These may be compounds of the synthetic or natural origin. The best-known synthetic endocrine disruptors are bisphenol A, which is used in the production of plastic materials and epoxy resins, pesticides which protect plants against the pests, or phthalates, substances used as plasticizers of plastics. Endocrine disruptors of plant origin are phytoestrogens and mycotoxins. Phytoestrogens are substances occurring as a natural part of some plants, mainly legumes, and they include isoflavones, lignans, and coumestans. Mycotoxins are secondary metabolites of fungi and the most known one is zearalenone.

All these substances have an impact particularly on reproductive system. Female reproductive system contains the ovaries, the fallopian tubes, an uterus, a vagina, a vulva and a vaginal vestibule. The functions of the reproductive organs are controlled neurohormonally by feedback mechanisms of axis hypothalamus-pituitary-ovary. The sexual cycle is controlled by the same way. This cycle is a set of periodic changes in the female reproductive organs.

The endocrine disruptors can have an effect to all levels of this axis and organs by different mechanisms. They cause various developmental abnormalities in the anatomy of the reproductive organs and their functional defects. The disruption may happen prenatally and postnatally. The ovaries are the main aim. These substances can interfere with the development of oocytes there, it has an impact especially on female fertility. Furthermore they affect a sexual cycle, pregnancy and its maintain, and they can cause various diseases such as polycystic ovarian syndrome, or cancer of the genital tract. These substances also affect other systems, they disrupt the immune system and participate in the development of metabolic diseases e.g. obesity, diabetes and many other health complications.

Keywords: Endocrine disruptors, hormones, bisphenol A, phytoestrogens

Obsah

2	Úvod.....	1
3	Cíl práce.....	1
4	Literární rešerše	2
4.1	Endokrinní disruptory	2
4.1.1	Charakteristika endokrinních disruptorů.....	2
4.1.2	Mechanismus účinku endokrinních disruptorů	2
4.1.3	Rozdělení endokrinních disruptorů a jejich výskyt.....	5
4.2	Reprodukční soustava samic	11
4.2.1	Vaječníky	11
4.2.2	Vejcovod	12
4.2.3	Děloha	13
4.2.4	Pochva.....	13
4.2.5	Poševní předsíň.....	13
4.2.6	Vulva	14
4.2.7	Hormonální řízení	14
4.2.8	Pohlavní cyklus.....	16
4.3	Vliv endokrinních disruptorů na reprodukci samic.....	20
4.3.1	Účinky endokrinních disruptorů na reprodukční orgány samice	21
4.3.2	Účinky endokrinních disruptorů na pohlavní cyklus, plodnost a březost. 23	
4.3.3	Účinky endokrinních disruptorů na prenatalní a postnatální vývoj	25
5	Závěr	27
6	Seznam literatury.....	28

1 Úvod

Dnešní svět je čím dál více zaplavován různými chemickými látkami. Některé pro nás mohou být přínosné, například v podobě léčiv, některé naopak velmi škodlivé. Skupina chemických látek s nechvalně známou reputací se nazývá „endokrinní disruptory“. Tyto syntetické látky byly vytvořeny pro různé účely, avšak jejich společnou vlastností je narušování přirozené hormonální regulace organismu, což vede k různým zdravotním poruchám, zejména v oblasti reprodukční soustavy.

Na rozdíl od synteticky vyráběných chemikálií patří do této skupiny také látky, jež byly na této planetě přítomny od pradávna. Nazývají se fytoestrogeny a jsou přirozenou součástí některých rostlin. Některé tyto látky mohou mít v určitých dávkách pozitivní vliv na zdraví, avšak převážně jsou jejich účinky negativní. Jsou teorie, že tyto látky se vyskytují v přírodě jako obranný mechanismus rostlin proti predátorům, býložravcům. Tím, že endokrinní disruptory narušují reprodukční funkce, zabraňují rozmnožování zvířat, ale i lidí, a snižují tak riziko, že jimi budou rostliny pozřeny. Poslední skupinou látek s disruptivními vlastnostmi jsou mykotoxiny. Ty jsou produkovány některými druhy plísní a stejně tak jako fytoestrogeny existují na světě již dlouhou dobu.

Tato oblast výzkumu, látek s endokrinně disruptivními vlastnostmi, ještě zdaleka není zcela probádána, z části i proto, že se neustále objevují nové a nové chemikálie. Avšak existuje již mnoho studií zabývajících se tímto tématem a povědomí o rizicích spojených s působením těchto látek na lidský a zvířecí organismus neustále narůstá.

2 Cíl práce

V životním prostředí se setkáváme s řadou chemických látek přírodního i syntetického původu, které v mnoha směrech významně ovlivňují živé organismy. Mezi tyto látky patří i endokrinní disruptory – látky účinkující jako hormony v endokrinním systému a zasahující významně do reprodukčních funkcí lidí i zvířat. Cílem práce je vytvořit ucelený přehled o vybraných endokrinních disruptorech a jejich účincích na reprodukci samic.

3 Literární rešerše

3.1 Endokrinní disruptory

3.1.1 Charakteristika endokrinních disruptorů

Endokrinní disruptory jsou U.S. Environmental Protection Agency (EPA) definovány jako exogenní látky, které interferují se syntézou, sekrecí, transportem, vazbami, účinky či rozkladem přirozených hormonů v těle, které jsou zodpovědné za udržování homeostázy, rozmnožování, vývoj a chování (Diamanti-Kandarakis et al., 2009).

Byly popsány již stovky endokrinních disruptorů s estrogenními či anti-estrogenními účinky (Zama et Uzumcu, 2010). Může se jednat o sloučeninou buď přírodního nebo syntetického původu (Diamanti-Kandarakis et al., 2009). Mezi syntetické endokrinní disruptory se řadí chemikálie používané v zemědělství, jako jsou například pesticidy, v průmyslu, při výrobě plastických hmot, léků a různých konzumních výrobků, a dále také přírodní sloučeniny nacházející se v potravinách v podobě fytoestrogenů, vyskytujících se jako přirozené součásti rostlin, či mykotoxinů, sekundárních produktů plísní (Brevini et al., 2005, Hrubá, 2009).

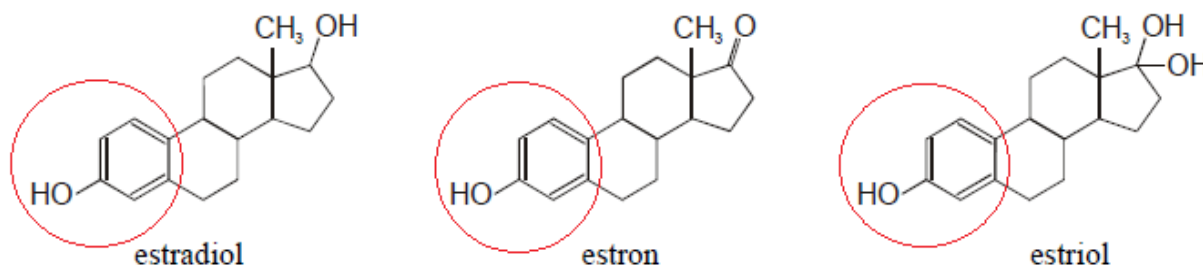
3.1.2 Mechanismus účinku endokrinních disruptorů

Pro pochopení mechanismu endokrinní disrupce musíme pochopit základní rysy endokrinního systému. Tradiční definice hormonu je molekula produkovaná žlázami s vnitřní sekrecí, která cestuje krví do vzdálených buněk a tkání (Bergman et al., 2013). Hormony působí pomocí vazby na specifický receptor. Když se hormon na tyto receptorové proteiny naváže, je to signálem pro navození hormonální odezvy (Welshons et al., 2003). Tyto receptory mohou být uloženy v buněčné membráně, cytosolu, nebo jádru. Některé hormony, zejména hydrofilní hormony, které nemohou prostupovat do buněk, se váží na extracelulární membránové receptory. Výsledkem je aktivaci komplexních intracelulárních signálních drah, které mohou vést k rychlým změnám v buněčné funkci. Jedná se o tzv. negenomické působení. Naopak v případě vazby na jaderné receptory se jedná o působení genomické. Takto působí lipofilní hormony, včetně pohlavních steroidů, které mohou difundovat do buněk, kde se váží na intracelulární receptory a přímo indukují transkripci specifických genů (Vandenberg et al., 2012, Welshons et al., 2003).

Každá buňka v těle je tedy nějakým způsobem regulována hormony, které tak mají nesčetné účinky na organismus. Tyto účinky však mohou být nepříznivě ovlivňovány látkami narušujícími endokrinní činnost, které jsou přijímány potravou, vodou, vzduchem, ale i transdermální absorpcí (Wuttke et al., 2010). Důležitý je také fakt, že endokrinní disruptory mají nízkou rozpustnost ve vodě a extrémně vysokou rozpustnost v tucích, což vede k jejich bioakumulaci v tukové tkáni (Diamanti-Kandarakis et al., 2009).

Ačkoli se dříve mělo za to, že endokrinní disruptory působí pouze prostřednictvím jaderných receptorů pohlavních hormonů, dnes je již znám fakt, že mohou působit více způsoby. Nejen prostřednictvím jaderných, ale i membránových receptorů, neurotransmiterových receptorů, či přes enzymatické dráhy zapojené do syntézy hormonů. (Craig et al., 2011)

Obecně tedy platí, že existují dva způsoby, jak mohou endokrinní disruptory narušit účinky hormonů. První způsob je uskutečňován přímým působením na hormonální receptory buněk a jejich funkci (Bergman et al., 2013). Endokrinní disruptory totiž mají často fenolovou skupinu, díky čemuž věrně napodobují přírodní steroidní hormony. Tato podobnost jim umožňuje interakci s jadernými receptory steroidních hormonů (Diamanti-Kandarakis et al., 2009).



Obrázek 1 – Endogenní estrogeny (převzato z: Kulajová et al., 2007)

Naopak receptory pro gonadotropní hormony, luteinizační a folikulostimulační hormon, se nacházejí na povrchu buňky. Na tyto receptory navázané ligandy pak modulují buněčné funkce pomocí tzv. druhých posílů prostřednictvím signálních drah (Craig et al., 2011).

Druhou možností, jak může být endokrinní systém narušen, je působení těchto látek na specifický protein, který řídí syntézu hormonů či jejich doručení na správné místo a ve správný čas. To může být například aromatáza, klíčový enzymy podílející se na konverzi testosteronu, mužského pohlavního hormonu, na estrogeny, či některý důležitý transportér nebo nosný protein (Bergman et al., 2013, Chan et al., 2016). Tak může chemická látka blokovat syntézu

hormonu s tím výsledkem, že dojde ke zvýšení nebo poklesu hladiny hormonů (Bergman et al., 2013).

Nejznámější skupinou v souvislosti s reprodukcí samic jsou endokrinní disruptory s estrogenní aktivitou. Jsou to látky, které v organismu napodobují hormony prostřednictvím estrogenních receptorů (ER) (Welshons et al., 2003). Některé tyto látky se váží k ER a aktivují jeho funkce (Jánošek et al., 2006). Jedná se o tzv. agonistický účinek, kdy endokrinní disruptor napodobuje hormonální účinek (Costa et al., 2014). Výsledný ligand-receptorový komplex se naváže na specifické oblasti DNA pro regulaci procesu transkripce genů, což vede k syntéze nových proteinů potřebných pro projev estrogenního děje (Bergman et al., 2013). Na druhé straně, některé látky mohou působit antagonisticky, a to kompetitivní vazbou na ER bez jeho následné aktivace, kdy nedojde k dostatečné reakci. Tím pak inhibují funkci přirozených estrogenů (Costa et al., 2014, Jánošek et al., 2006).

Estrogenové receptory existují ve dvou isoformách, ER α a ER β , které jsou kódovány na odlišných genech a mají odlišné fyziologické role (Chan et al., 2016, Singleton et Khan, 2003). Liší se také rozmístěním v organismu. ER α je nejvíce koncentrován v prsou, děloze, hypofýze a ledvinách. Distribuce ER β je poněkud širší, objevuje se v kardiovaskulárním systému, hypothalamu, gastrointestinálním traktu, vaječnicích (granulózních buňkách), ledvinách a plicích. Ačkoli mnoho tkání vykazuje převahu jednoho typu ER, v mnohých buňkách se můžou vyskytovat oba typy. Jednotlivé receptorové typy mohou vázat širokou škálu ligandů s podobnou afinitou, některé sloučeniny však vykazují preferenci pro konkrétní subtypy receptorů (Singleton et Khan, 2003).

Účinnost hormonů a dalších molekul, včetně endokrinních disruptorů, závisí na několika faktorech, a to na afinitě ligandu pro receptor, počtu receptorů, stupni vývoje organismu v době, kdy dojde k expozici, a v neposlední řadě také na koncentraci dané látky (Vandenberg, 2014). Obecně platí, že endokrinní systém je naladěn reagovat na hormony ve velmi nízkých koncentracích, typicky v pikomolárním na nanomolárním rozmezí (např. u žen estradiol v rozmezí 10-900 pg/ml). Podobně jako hormony, i endokrinní disruptory mají dvoufázovou, nemonotónní odezvu na dávku, graficky znázorněnou ve tvaru U či obráceného U. Z toho vyplývá, že také mohou způsobit odezvu i ve velmi nízkých koncentracích, kdy studie uvádějí nanomolární až mikromolární, některé až pikomolární úroveň (Costa et al. 2014, Vandenberg et al., 2012).

3.1.3 Rozdělení endokrinních disruptorů a jejich výskyt

Endokrinní disruptory mohou pocházet z mnoha zdrojů. Tyto zdroje mohou být obecně rozděleny na syntetické (např. pesticidy) a přírodní (fytoestrogeny a mykotoxiny). Zatímco moderní způsob života dává vzniku více a více syntetických chemikálií, přírodní zdroje těchto látek tu existovaly vždy (Shaw, 2009).

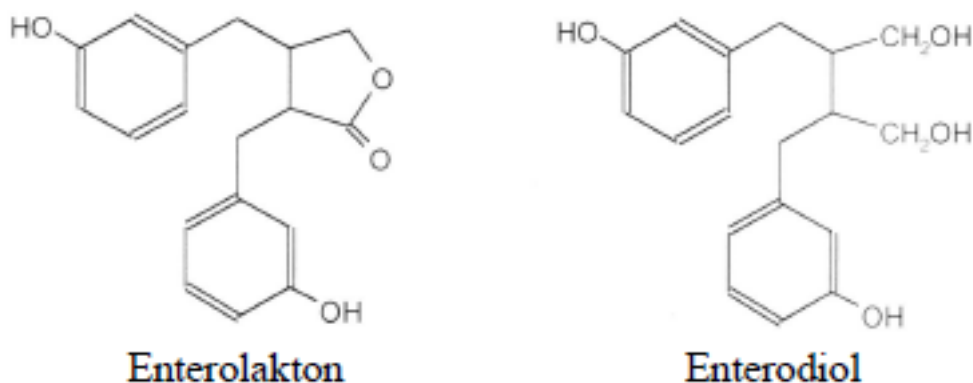
3.1.3.1 Přírodní endokrinní disruptory

Fytoestrogeny jsou bifenolické nesteroidní látky napodobující estrogeny. Jsou obsaženy ve všech rostlinách, avšak v největší koncentraci se nacházejí v luštěninách (Preedy, 2013). Přestože fytoestrogeny mají řadu nepříznivých účinků na zdraví a plodnost, na rozdíl od mykotoxinů mohou mít i účinky pozitivní. Příkladem je biochanin A, významný zástupce izoflavonů, který může působit preventivně proti vzniku rakoviny a inhibovat vznik nádorů (Tao et al., 2012). Některé fytoestrogeny se také používají při léčbě menopauzy u žen.

Nejznámější skupinou fytoestrogenů jsou izoflavony, kumestany a lignany (Vrzáňová et Heresová, 2003).

Lignany

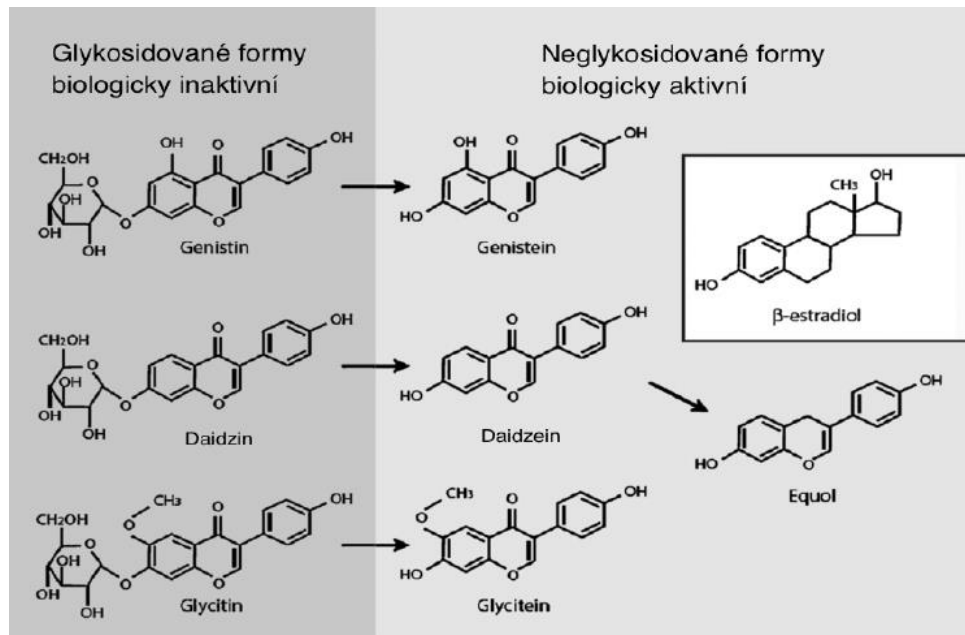
Lignany jsou složkou některých vyšších rostlin, jako jsou například obiloviny, luštěniny či některé druhy zeleniny. Mimořádně vysoké koncentrace lignanů se nacházejí ve lněném semínku. Jejich hlavními metabolity jsou enterolakton a enterodiol (Bacciottini et al., 2007).



Obrázek 2 – Chemická struktura vybraných lignanů (Holoubek et Čadová, 2000)

Izoflavony

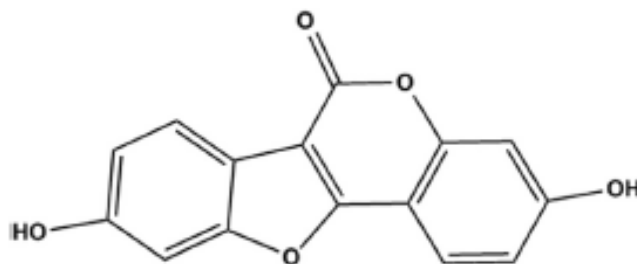
Společně s lignany jsou izoflavony nejběžnějšími fytoestrogeny s největší estrogenní aktivitou. Nacházejí se zejména v ovoci, zelenině, obilovinách a ve fyziologicky významné míře v sóje. Sojové boby obsahují primární izoflavony v jejich glykosidové formě, a to glycitin, genistin a daidzin. Jejich trávení vede ke štěpení cukerné části a vytvoření příslušných aglykonů: glyciteinu, genisteinu a daidzeinu (Preedy, 2013).



Obrázek 3 – Přeměna biologicky inaktivních forem izoflavonů na aktivní (Cederroth et Nefe, 2009)

Kumestany

Z kumestanů vykazuje největší estrogenní aktivitu kumesterol. Jeho zdrojem jsou luštěniny, zejména sojové výhonky, dále jeteloviny, růžičková kapusta či špenát (Karkola et Wähälä, 2009).



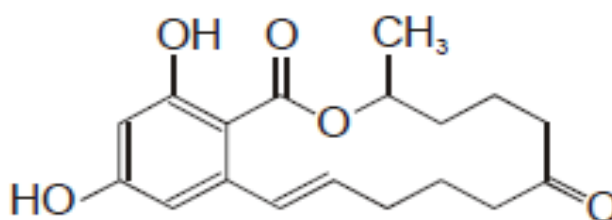
Obrázek 4 - Chemická struktura kumesterolu (Zafar et al., 2017)

Mezi přírodní endokrinní disruptory se řadí také **mykotoxiny**. Jedná se o sekundární metabolity plísní, látky pro lidi a zvířata toxické při jejich požití či inhalaci (Keller et al., 2015). Představují velký problém v oblasti potravinové toxikologie, protože vstupují do potravinového řetězce po celém světě v důsledku infekce náchylných plodin určených pro lidskou a zvířecí spotřebu. Jsou tedy prakticky nevyhnutelnými kontaminanty potravin a krmiv (Dellafiora et Dall'Asta, 2017).

Hlavními mykotoxiny nalezené v zemědělských produktech jsou zearalenon (ZEA), aflatoxiny (AFS), deoxynivalenolu a jeho deriváty, fumonisiny, patulin a ochratoxin A (OTA) (Keller et al., 2015).

Zearalenon

Zearalenon patří mezi nejsledovanější mykotoxiny v krmivech hospodářských zvířat. Jedná se o produkt plísní *Fusarium graminearum*, které rostou na různých obilninách (pšenice, ječmen, oves, kukuřice). Kontaminace obilovin touto plísní je obvykle výsledkem opožděné sklizně a skladování zrna s vysokou vlhkostí (Sedmíková, 2003).



Obrázek 5 – Chemická struktura zearalenonu (Kulajová et al., 2007)

Aflatoxiny

Aflatoxiny jsou produkovány houbami *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* a *A. nomius*. Jelikož *A. flavus* je téměř všudypřítomná, výskyt aflatoxinů je velmi rozšířen. Tyto plísně nejčastěji napadají plodiny jako jsou arašídny, kukuřice, bavlníková semena a obiloviny. K jejich výskytu dochází zejména v důsledku nedostatečného sušení a špatného skladování. (Pitt, 2000)

3.1.3.2 Syntetické endokrinní disruptory

Lidská aktivita, zejména během a po průmyslové revoluci, introdukovala do našich životů mnoho nových chemikálií. I když mnoho těchto látek je velice prospěšných z hlediska životního stylu a jejich terapeutických účinků, některé z nich mohou mít nežádoucí endokrinně

disrupční vlastnosti. Jedná se zejména o určitá farmaceutika, zemědělské a průmyslové chemikálie a potravinová aditiva (Shaw, 2009).

Fenoly

Rozšířený výskyt fenolů ve vodním i suchozemské prostředí je spojen s rozsáhlou syntézou a degradací různých chemických látek, včetně epoxidové pryskyřice, polykarbonátů nebo pesticidů. Kromě nejznámějšího bisfenolu A byl v současné době zaznamenán také velký výskyt například bisfenolu F (BPF), bisfenolu AF (BPAF) a zejména bisfenolu S (BPS) (Maćczak et al., 2017).

Bisfenol A

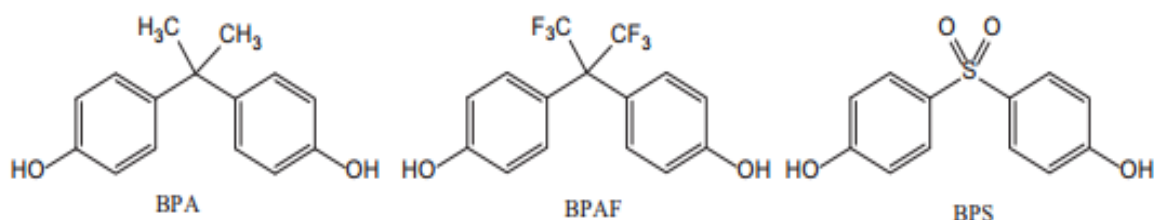
Bisfenol A (BPA), chemicky (2,2-bis(4-hydroxyfenyl)propan), je v současnosti jeden z nejvíce používaných průmyslových chemických látek na světě. Je klíčovou přísadou při výrobě plastových polykarbonátových materiálů (Senjen et Azoulay, 2008). V četných studiích bylo zjištěno, že BPA obsahují kojenecké lahve a opakovaně použitelné lahve na vodu. Kovové potravinové konzervy jsou chráněny proti korozi použitím epoxidových pryskyřic jako vnitřních nátěrů. Mnoho z těchto pryskyřic je syntetizováno kondenzací epichlorhydrinu s BPA do podoby BPA-diglycidyletheru. Dojde-li k jeho úplné polymeraci, zbytkový BPA z epoxidové pryskyřice má potenciál kontaminovat uložené potraviny (Vandenberg et al., 2009). Jeho přítomnost byla zjištěna ve sladké i mořské vodě, ve skládkových kalech, ve vzduchu a v prachových částicích, ale i v ovoci a zelenině pěstované ve skleníkových podmínkách kontaminovaných migrací BPA z PVC panelů (Senjen et Azoulay, 2008).

Původně byl považován jeho estrogenní účinek za velmi slabý, nicméně novější studie prokázaly, že bisfenol A může stimulovat některé buněčné odezvy při velmi nízkých koncentracích a v některých případech je ekvivalentní v síle přírodního steroidního estradiolu (Rubin, 2011).

Bisfenol S a AF

Vazba mezi BPA a nepříznivými vlivy na lidské zdraví vedla k přísnějším globálním předpisům Evropské unie o používání BPA ve výrobě. V důsledku toho se však zvýšilo využití jiných bisfenolů při výrobě pryskyřic a plastů (Fic et al., 2015). Jedná se o bisfenol S (BPS), chemicky (4,4-sulfonyldiphenol), a bisfenol AF (BPAF), (2,2-bis (4-hydroxyfenyl) hexafluorpropan), jež jsou strukturními analogy bisfenolu A (BPA) a jsou používány jako

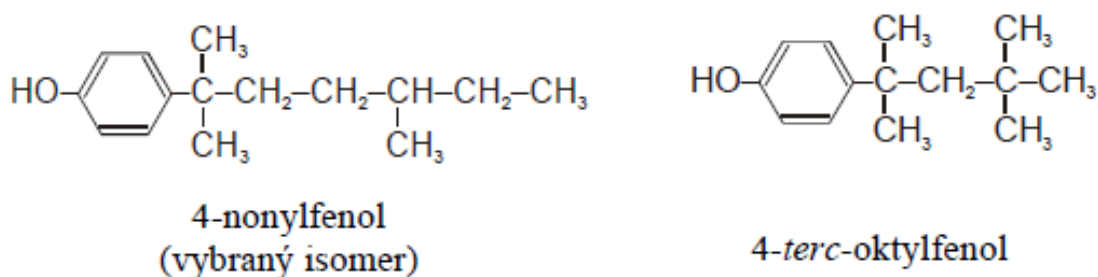
náhrada za BPA (Fic et al., 2015, Maćczak et al., 2017). V různých studiích, kde byly porovnávány účinky BPA a jeho analogů, bylo zjištěno, že BPS vykazuje podobnou nebo nižší estrogenní aktivitu než BPA, přičemž BPAF má dokonce ještě vyšší agonistické účinky na estrogenní receptory než BPA (Fic et al., 2015).



Obrázek 6 – Chemická struktura vybraných bisfenolů (Fic et al., 2015)

Alkylfenoly

Alkylfenoly, jako jsou např. nonylfenol a oktylfenol, se používají k průmyslové výrobě alkylfenol-polyethoxylátů sloužících jako detergenty (čistící prostředky) a jako antioxidanty. Ačkoliv samotné detergenty nejsou estrogenní, zpracování jimi kontaminované vody v čistírnách odpadních vod vede ke vzniku perzistentních hydrofobních metabolitů s estrogenní aktivitou, které se kumulují se v čistírenském kalu. Nejproblematictější z alkylfenolů je nonylfenol, který napodobuje přirozený hormon 17 β -estradiol (Křesinová et al., 2009).



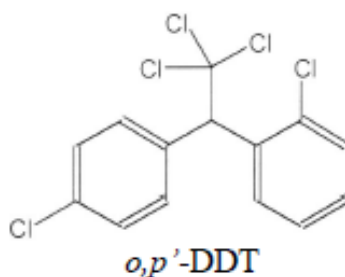
Obrázek 7 – Chemická ástruktura vybraných alkylfenolů (Kulajová et al., 2007)

Ftaláty

Ftaláty se používají v řadě produktů jako rozpouštědla a fixativa, ale především jako změkčovadla některých typů plastů, zejména polyvinylchloridu (PVC), ve kterém však nejsou chemicky vázány, a proto mohou snadno migrovat do okolního prostředí (Vrbík et al., 2016).

Pesticidy

Pesticidy jsou používány k regulaci plevelů, plísní, hmyzu, ale i vyšších obratlovců v zemědělství již mnoho let. Avšak stále více vzrůstají obavy kvůli těmto chemikáliím, jakožto perzistentním organickým polutantům, jež se mohou bioakumulovat v životním prostředí, vodě, potravinách, ale i v tělech zvířat a lidí, zejména v jejich tukové tkáni (Shaw, 2009). Velmi známým pesticidem s estrogenními vlastnostmi je dichlordifenyltrichloretan (DDT), používaný zejména po druhé světové válce pro své insekticidní účinky. Ačkoli byl v roce 1970 zakázán, v rozvojových zemích jeho využívání pokračuje a díky kontaminaci půdy a vody může nadále vstupovat do potravinového řetězce (Munier et al., 2016).



Obrázek 8 – Chemická struktura vybraného insekticidu: DDT (Holoubek et Čadová, 2000)

Dalšími v minulosti často používanými insekticidy jsou aldrin a dieldrin. Jedná se o velmi stabilní sloučeniny, jež jsou odolné vůči degradaci, a kvůli jejich dlouhému poločasu rozpadu jsou trvalými polutanty životního prostředí. Ačkoli i jejich používání bylo v minulém staletí zakázáno, v některých zemích se nadále používají a kvůli jejich schopnosti se šířit vodou a ovzduším se mohou dostat daleko od zdroje emise. Tyto látky jsou často nalézány ve folikulární tekutině krav a také v hovězím masu a mléku, zejména tedy v rozvojových zemích, kde jsou tyto insekticidy stále využívány (Wrobel et al., 2015).

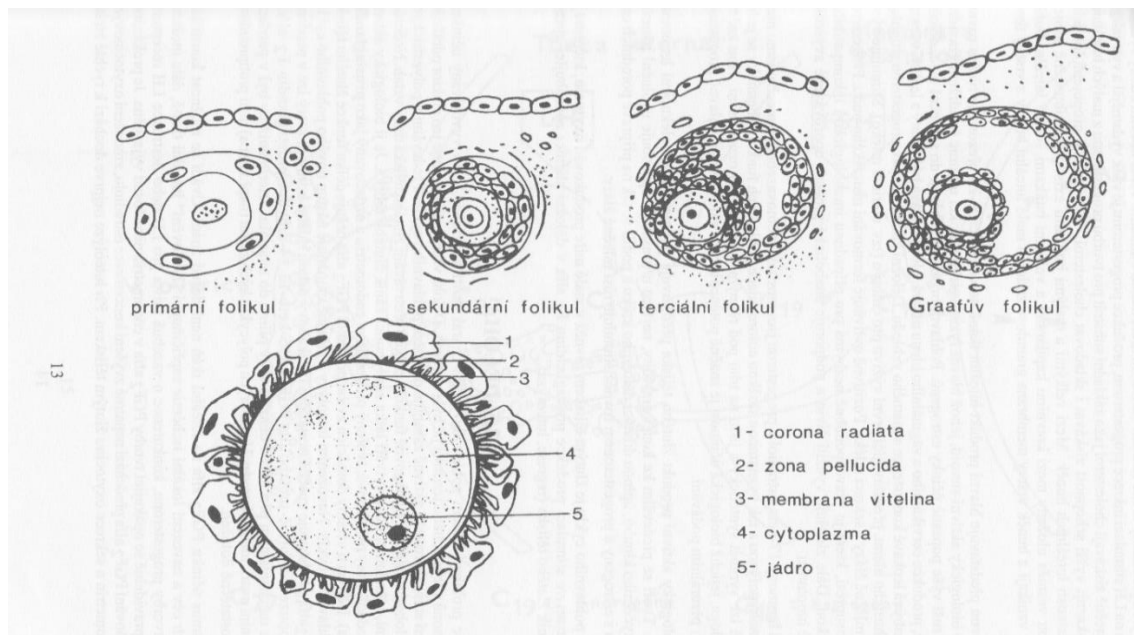
3.2 Reprodukční soustava samic

Hlavní funkcí reprodukční soustavy samic je tvorba pohlavních buněk (vajíček) a hormonů, což jsou u samic estrogeny a progesteron. Dále soustava zajišťuje páření a v případě oplození má za úkol chránit a vyživovat embryo a následně vyvíjející se plod až do doby porodu (Marvan et al., 2011).

Pohlavní orgány samice se rozdělují na vnitřní a vnější. Mezi vnitřní patří vaječníky, vejcovody, děloha a pochva, vnější části pohlavní soustavy tvoří poševní předstíň, vulva a poštváček (Marvan et al., 2011).

3.2.1 Vaječníky

Vaječníky (*ovarium*) jsou párové žlázy samičí pohlavní soustavy. Jedná se o tuhoelastické orgány šedorůžové barvy uložené v kaudální části dutiny břišní. Zde jsou zavěšeny na vaječnickovém okruží, které kraniálně navazuje na široký děložní vaz, a drženy tak ve stálé poloze. Dále jsou připevněny k děložnímu rohu, a to vlastním vaječnickovým vazem. Morfologické vlastnosti vaječnicku jsou druhově odlišné a u dospělých samic se liší i v průběhu pohlavního cyklu (Marvan et al., 2011). Vnitřek vaječnicků je vyplněn dřeninou, která obsahuje kolagenní vazivo, cévy a nervy. Povrch vaječnicků tvoří bělavý obal z kolagenního vaziva a pod ním se nachází vrstva korová, která obsahuje různá vývojová stádia folikulů (Reece, 2010). Vaječníky mají tedy dvě hlavní funkce. První funkcí je pravidelné uvolňování oplození schopného oocyty (prasknutím dozrálého folikulu). Druhou funkcí je tvorba pohlavních hormonů, jež mimo jiné zajišťují přípravu pohlavních orgánů na přijetí oplozeného vajíčka (Cibulka et al., 2004).



Obrázek 9 – Vývojová stádia folikulu a vajíčko po ovulaci (Doležel et Kudláč., 1997)

Folikuly mají tři stadia vývoje. První se nazývá primordiální folikul (též primární). Jedná se o klidové stadium, které obsahuje jeden oocyt obklopený pouze jednou vrstvou plochých granulóznicích buněk vznikajících z povrchového epitelu. Dalším stadiem je rostoucí folikul (sekundární, terciální), který má již 2 a více vrstev granulóznicích buněk kvádrovitého tvaru. Dále má vnitřní a vnější obal tvořený luteinními (theca) buňkami. Posledním stadiem je zralý měchýřkovitý, tzv. Graafův folikul, který vlivem hypofyzárního luteinizačního hormonu praská a dochází k ovulaci (Craig et al., 2011, Reece, 2010).

3.2.2 Vejcovod

Vejcovod (*tuba uterina*) je párová hladkosvalová trubice, pokrytá sliznicí s jednovrstevným až víceřadým cylindrickým epitelem s řasinkami. V břišní dutině jsou zavěšeny na vejcovodovém okruží, což je část pobřišnice (Reece, 2010). Délka vejcovodu se u jednotlivých druhů zvířat liší. Krávy mají z hospodářských zvířat vejcovod nejdelší a jeho délka dosahuje až 30 cm (Marvan et al., 2011). Důležitou funkcí je transport ovulovaného oocytu směrem k děložnímu rohu pomocí pohybu řasinek a stahů hladké svaloviny vejcovodu. Oocyt se do vejcovodu dostává z vaječníku nálevkou vejcovodu, kde zachytává a dokončuje svůj vývoj, přičemž může dojít k jeho oplození samčí pohlavní buňkou – spermii. Ke kapacitaci spermii zde dochází za pomoci produktů sekrečních buněk obsažených ve sliznici. Do následující části pohlavní soustavy prochází oocyt děložním ústím děložního rohu (Cibulka et al., 2004, Reece, 2010).

3.2.3 Děloha

Děloha (*uterus*) je silnostěnný dutý orgán. U hospodářských zvířat se až na některé morfologické odlišnosti skládá ze tří částí. Je to kaudálně uložený děložní krček, děložní tělo a na něj kraniálně navazující dva děložní rohy. Ve své poloze je děloha upevněna pomocí dvou širokých děložních vazů. U pohlavně nedospělých samic je uložena z největší části v pánevní dutině, avšak v době gravidity se výrazně zvětšuje a kraniálním posunem tak zaplňuje velkou část dutiny břišní (Marvan et al., 2011). Děloha je vystlána žláznatou sliznicí (endometrium), na které u přežvýkavců ještě navíc vyrůstají houbovitě výběžky, karunkuly, zajišťující spojení s obaly plodu. Sekret endometriálních žláz poskytuje výživu plodu před vytvořením placenty. Střední vrstva dělohy, myometrium, je tvořena z hladkosvalových buněk a napomáhá při porodu s vypuzováním plodu svalovými kontrakcemi. Svrchní serózní vrstva se nazývá perimetrium a je tvořena vrstvou pobřišnice (Reece, 2010). Funkcí dělohy je tedy zachytit oplozené vajíčko a zajistit jeho následný vývoj až do doby porodu (Jelínek et Koudela, 2003).

3.2.4 Pochva

Pochva (*vagina*) je pářící orgán samice trubicovitého charakteru se schopností značně měnit svou velikost a tvar, a je uložena v pánevní dutině. Je vyústěním děložního krčku a je tvořena sliznicí, svalovinou a na povrchu vrstvou řídkého vaziva (adventici), jež spojuje pochvu s okolními orgány. Sliznice pochvy neobsahuje žlázy. Je pokryta vícevrstevným dlaždicovým epitelem, který během pohlavního cyklu podléhá výrazným změnám, souhrnně označovaným jako poševní vaginální cyklus (Marvan et al., 2011). Pochva tedy svým prostorovým uspořádáním plní funkci kopulačního orgánu pro zasouvání penisu během pohlavního aktu (Cibulka et al., 2004).

3.2.5 Poševní předsíň

Poševní předsíň (*vestibulum vaginae*) je pokračováním pochvy a vyústuje do ní močová trubice. Mezi pochvou a poševní předsíní se až do prvního pohlavního styku nachází tenká slizniční řasa, tzv. panenská blána (*hymen*). Po jejím protržení zůstává na sliznici jizvovitý útvar. Sliznice předsíně obsahuje žlázy, které vylučují hlenový sekret usnadňující zasunutí pyje při pohlavním styku. Součástí poševní předsíně je i vůlí ovladatelný kruhový svěrač, tvořen vrstvou žíhané svaloviny (Marvan et al., 2011).

3.2.6 Vulva

Vulva je vchodem do pohlavních cest samice. Skládá ze stydkých pysků ohraničujících stydkou štěrbinu a pošťeváčku (*clitoris*). Od řitního otvoru ji dělí krátká hráz. Stydké pysky jsou tvořeny převážně tukovým a elastickým vazivem, na povrchu jsou kryty kůží s četnými potními a mazovými žlázami. Pošťeváček je rudimentem samčího pyje a stejně tak i jeho podkladem je topořivé těleso. Zakončen je zaobleným žaludem, jehož sliznice obsahuje řadu citlivých nervových zakončení (Marvan et al., 2011).

3.2.7 Hormonální řízení

Pohlavní funkce i celý proces rozmnožování jsou složitým biologickým řetězcem procesů probíhajících na pohlavním ústrojí, ale i v celém organismu. Jsou výsledkem činnosti specializovaných pohlavních orgánů, které podléhají řízení extragenitálních struktur. Řídící centra představují kůra koncového mozku, hypotalamus, hypofýza a ovaria. Jedná se o uzavřený okruh, kde fungují tzv. zpětnovazebné mechanismy, což znamená, že funkčně podrázené struktury jsou ovlivňovány těmi výše položenými, ale i naopak, vyšší struktury jsou ovlivňovány strukturami podrázenými (Jelínek et Koudela, 20013).

Kůra mozková a její podkorová centra jsou nadřazeným centrem neurohumorální regulace sexuálních funkcí. Pomocí smyslových orgánů přijímá podněty a vjemy z okolí a současně pomocí periferních nervů, míchy a vegetativního nervového systému přijímá informace o celkovém stavu. Tyto informace jsou zde analyzovány a syntetizovány a dále převáděny do hypotalamu (Doležel et Kudláč, 1997).

Hypotalamus přijímá neurální cestou podněty z kůry mozkové a humorální cestou informace o aktuálním stavu pohlavní soustavy (Doležel et Kudláč, 1997). V jeho předním sexuálním centru jsou tyto podněty vyhodnoceny a výsledné impulzy jsou vedeny do zadního sexuálního centra, ve kterém je v jeho specifických jádrech navozena sekrece hypotalamických hormonů. Tyto hormony jsou látky peptidické povahy, stimulující (libertiny – RH) nebo inhibující (statiny – IH) adenohipofýzu a její produkci gonadotropních hormonů (Jelínek et Koudela, 2003). Nejvýznamnější neurohormon představuje z hlediska pohlavní aktivity GnRH (gonadotrophin releasing hormone), regulující uvolňování gonadotropinů. Neurohormony se dostávají krví do tzv. portálního systému, kterým putují k sekrečním buňkám předního laloku hypofýzy (Doležel et Kudláč, 1997). Tento hypotalamo-hypofyzární portální systém

představuje komplex cév, který se na obou koncích rozvětluje v kapiláry a spojuje tak obě žlázy (Reece, 2010).

Přední lalok hypofýzy (adenohypofýza) obsahuje sekreční buňky, které na základě působení příslušných hypotalamických hormonů uvolňují adenohypofyzární hormony do krevního oběhu. Pro pohlavní aktivitu jsou nejdůležitější gonadotropiny (hormony stimulující gonády), zahrnující folikulostimulující hormon (FSH) a luteinizační hormon (LH). Gonadotropiny řídí ovariální aktivitu. FSH stimuluje růst a částečně i zrání folikulů na vaječnicích a ovlivňuje tvorbu estrogenů. LH stimuluje zrání folikulů, ovulaci a tvorbu žlutého tělíska a také ovlivňuje tvorbu estrogenů, ale i progesteronu (Doležel et Kudláč, 1997). Koncentrace ovariálních steroidních hormonů pak pomocí zpětnovazebných mechanismů naopak ovlivňuje sekreci LH a FSH. Zvýšená koncentrace estrogenů má za následek zvyšující se uvolňování gonadotropinů, naopak progesteron jejich sekreci snižuje (Reece, 2010).

Ovariální folikuly mají za úkol produkci estrogenů (Doležel et Kudláč, 1997). Jak již bylo zmíněno, folikuly tvoří dva druhy buněk. Prvním typem jsou luteinní neboli theca buňky. Ty mají receptory pro hypofyzární gonadotropin LH. Jeho vazba na tyto receptory signalizuje theca buňkám zvýšení transkripce genů, které kódují enzymy nutné k přeměně cholesterolu na androgeny (mužské pohlavní hormony). Druhým typem folikulárních buněk jsou granulózní buňky, které mají naopak receptory pro FSH. Tento gonadotropin po navázání na receptor také vyvolává zvýšenou transkripci genů, které kódují enzymy pro konverzi androgenů odvozených z theca buněk na ženské pohlavní hormony, estrogenery (Craig et al., 2011).

Hlavním estrogenem je 17β -estradiol, který se za březosti ve velké míře vytváří v placentě a jeho metabolity estron a Obecně je jejich hlavní funkcí stimulovat buněčnou proliferaci a růst tkání souvisejících s reprodukcí. Jak uvádí Reece (2010) ve své knize, zahrnuje tkáňová odpověď na estrogenery tyto změny: stimulaci růstu žláz endometria a růstu vývodných cest mléčné žlázy, zvýšení sekreční aktivity děložních žláz, navození sexuálního chování, regulaci sekrece luteinizačního hormonu (LH) předním lalokem hypofýzy, regulaci uvolňování $PGF_2 \alpha$ (prostaglandinu) či epiteliotropní aktivitu, jenž se projevuje v období říje a má za následek proliferaci a rohovatění epitelu pochvy.

Progesteron je naopak produkován žlutým tělískem, v případě březosti i placentou. Také se jedná o steroidní hormon, jehož hlavní fyziologickou funkcí je udržení gravidity (Doležel et Kudláč, 1997). Podle Reece (2010) jsou jeho hlavními funkcemi: podpora růstu žláz

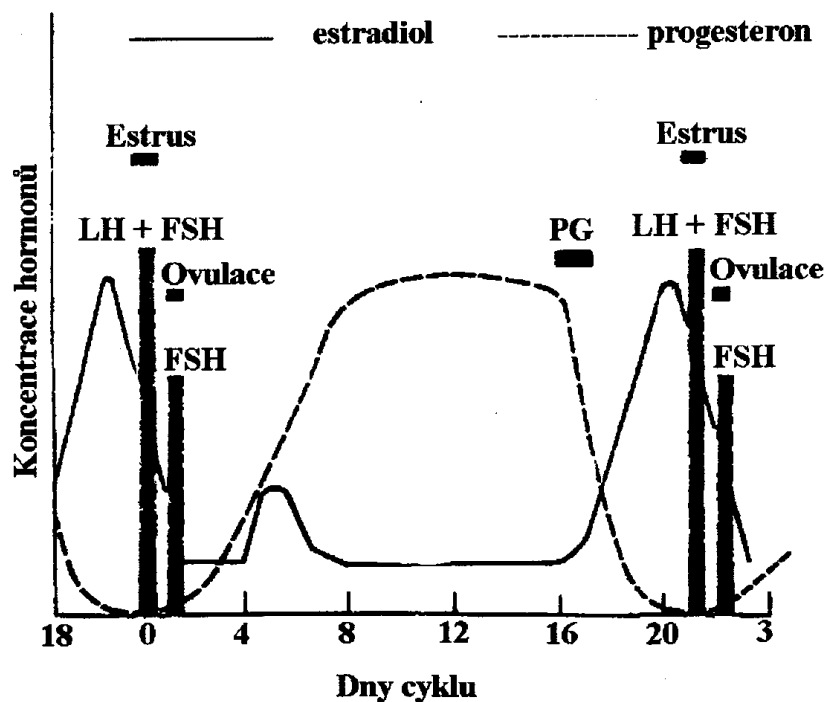
endometria, stimulace sekreční aktivity vejcovodu a endometriálních žláz dělohy k poskytnutí výživy pro vyvíjející se embryo před jeho uhnízděním, stimulace alveolů mléčné žlázy, brání děložním stahům během a reguluje sekreci gonadotropinů.

3.2.8 Pohlavní cyklus

Pohlavní cyklus neboli říjový (estrální) cyklus, je označení pro soubor fyziologických změn na pohlavních orgánech a v chování samic. Tyto změny zahrnují pravidelné periody svolnosti k páření (říje). Ty se vyskytují u jednotlivých druhů v různých intervalech. Jeden interval je definován jako čas od začátku jednoho cyklu říje k dalšímu (Reece, 2010).

Počátek pohlavní cykličnosti se dostavuje v období puberty, kdy samice pohlavně dospívá. Jeden interval trvá v průměru 21 dnů, u samic, které ještě nebyly březí, bývá kratší. Příkladem může být skot, kdy u jalovic je to 20 ± 2 dny, u krav potom 21 ± 4 dny (Louda, 2001). Podle opakovatelnosti pohlavních cyklů se patří většina hospodářských zvířat mezi polyestrická, pro která je charakteristický průběh cyklů během celého roku, přerušovaných jen v době březosti a krátce po porodu (Jelínek et Koudela, 2003). Některá však mohou být i sezónně polyestrická, u kterých je říje vázána na pářící sezónu, po které následuje období bez říje, tzv. anestru. Do této skupiny patří ovce a kozy (Cibulka et al., 2004).

Pohlavní cyklus rozdělujeme do několika fází podle převahy orgánových a psychických změn, resp. podle změn dostavujících na jednotlivých částech pohlavního ústrojí, určovaných hormonálními změnami (Jelínek et Koudela, 2003). Časové rozmezí jednotlivých fází je závislé na živočišném druhu, ale i na individuálních vlastnostech. Pro příklad je uveden pohlavní cyklus krávy.



Obrázek 10 – Změny hladiny estradiolu a progesteronu v krevní plazmě v průběhu estrálního cyklu (Louda, 2001)

3.2.8.1 Proestrus

Proestrus je období před říjí a trvá u krávy v průměru 3 dny, 18. – 20. den cyklu (Louda, 2001). V této fázi dochází k uvolňování folikulostimulačního hormonu (FSH) z adenohipofýzy a jeho vlivem dochází k růstu a zrání folikulů. Současně vlivem hormonu prostaglandinu $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) zaniká žluté tělísko z předchozího cyklu. Ve zrajících folikulech se tvoří estrogení hormon 17β -estradiol, který způsobuje zvýšení přívodu krve do pohlavního ústrojí, zvýšení svalové dráždivosti vývodných pohlavních cest. Dále se v této fázi otevírá děložní krček a začíná tvorba cervikálního hlenu (Jelínek et Koudela, 2003). Proestrus a estrus je souhrnně označován jako folikulární perioda, která je charakterizována dominancí estrogenů (Reece, 2010). Zvýšením hladiny estrogenů dochází i ke změně chování plemenic. Projevem je neklid, bučení, naskakování na jiné krávy a výrazné snížení nádoje mléka (Burdych et al., 2004).

Synchronně s těmito změnami dochází v průběhu pohlavního cyklu samice i periodickým změnám na děložní sliznici. V období proestru je sliznice ve fázi proliferace, kdy se zvyšuje slizniční i žláznový epitel. Rozšiřují se krevní cévy a naplňují se krví, což má za následek narudlou barvu sliznice (Marvan et al., 2011).

3.2.8.2 Estrus

Období říje neboli estru trvá u krávy 1 den \pm 12 hodin a bývá označováno jako 0. den cyklu (Louda, 2001). V této době se z adenohipofýzy začíná vyplavovat luteinizační hormon (LH), který dokončuje zrání folikulů a vzniká tzv. Graafův folikul vyplněný folikulární tekutinou, v níž dozrává vajíčko. Z vulvy vytéká čirý hlen, samice má mírně zvýšenou teplotu a ztrácí chuť k žrádlu. Aktivní chování přechází v pasivní, samice je ve stadiu ochoty k páření a nechá na sebe skákat ostatní zvířata (Burdych et al., 2004). Vyvrcholením říje je ovulace, kdy dochází k prasknutí stěny folikulu v důsledku zvýšeného nitrofolikulárního tlaku a vyplavení vajíčka do nálevky vejcovodu. Poté mizí příznaky říje a na místě prasklého folikulu se začíná vytvářet žluté tělísko (Jelínek et Koudela, 2003).

V období říje vrcholí proliferační fáze děložního cyklu. Překrvení sliznice může být provázeno subepiteliárním krvácením, krev může prostupovat přes epitel i do děložní dutiny. Sliznice je zduřená, dochází k tzv. fyziologickému edému (Marvan et al., 2011).

3.2.8.3 Metestrus

Metestrus je období po říji, které následuje po ovulaci a trvá od 1. do 4. dne cyklu krávy. Vznikající žluté tělísko přebírá dominantní úlohu a začíná vystupovat až 15-20 mm nad povrch vaječnicku, u jalovic bývá větší (Louda, 2001). Je tvořeno luteinovými buňkami, které vznikají přeměnou folikulárních buněk a obsahují barvivo lutein, propůjčující tělísku žlutou barvu (Jelínek et Koudela, 2003). Žluté tělísko produkuje progesteron, který tlumí sekreci luteinizačního hormonu (LH) a folikulostimulačního hormonu (FSH) z předního laloku hypofýzy a dočasně zabraňuje dalšímu zrání folikulů (Louda, 2001). Toto období je dále charakterizováno zánikem příznaků psychického a pohlavního podráždění, uzavřením děložního krčku, zánikem edematózního zduření a zvýšeným odtokem krve z pohlavního ústrojí samice (Jelínek et Koudela, 2003). Vajíčko ovulované v předchozí fázi se dostává z nálevky vejcovodu do vejcovodu, kde může dojít k jeho oplození (Burdych et al., 2004).

Sliznice dělohy přechází v tomto období do fáze sekrece, kdy děložní žlázy produkují sekret, tzv. děložní – uterinní mléko. Tento hlen se hromadí v děložní dutině a vytváří tak příznivé podmínky pro vývoj oplozeného vajíčka (Marvan et al., 2011).

3.2.8.4 Diestrus

Diestrus, období pohlavního klidu, trvá u krávy od 5. do 18. dne cyklu (Louda, 2001). Na ovariu stále roste žluté tělísko a nejvyšší aktivitu stále vykazuje progesteron (Burdych et al. 2004). Pokud kráva zabřezla, žluté tělísko přetrvává a zabraňuje nástupu nové říje. V případě že k zabřeznutí nedošlo, začíná děložní sliznice produkovat prostaglandin $F_{2\alpha}$, který navodí regresi žlutého tělíska. Následná klesající hladina progesteronu ovlivní vzestup hladiny LH a FSH a nastupuje nový pohlavní cyklus (Louda, 2001). Období metestru a diestru se souhrnně označuje jako tzv. luteální peperioda (Reece, 2010).

V případě že nedošlo k oplození vajíčka, dostává se děložní sliznice ke konci diestru do fáze regrese. Ustává sekrece žláz a epitel žláz i endometria se snižuje. Endometrium se pak vrací do původního klidového stavu (Marvan et al., 2011).

3.3 Vliv endokrinních disruptorů na reprodukci samic

Jedním z nejdiskutovanějších témat týkajících se endokrinních disruptorů je jejich vliv na sexuální vývoj a reprodukci. Tyto látky mohou působit na různých úrovních reprodukční soustavy, mají vliv na vývoj pohlavních orgánů, pohlavní buňky, hypotalamo-hypofyzárně-gonadální osu, pohlavní cyklus, a v neposlední řadě také dopad na následnou reprodukci, schopnost zabřeznutí či udržení březosti.

Důležitým faktorem je načasování expozice. U dospělých jedinců může vést vystavení organismu endokrinním disruptorům k narušení zdravé a reprodukčních funkcí, teoreticky jsou však tyto účinky po ukončení expozice reverzibilní. Avšak dojde-li k expozici v kritickém období během vývoje v děloze, tzv. transplacentárním přenosem, mohou být vyvolány nežádoucí a nevratné účinky na plod, jejichž následky potrvají po celý život. V prenatalním období je náchylnost k endokrinním disruptorům vyšší než v dospělosti a účinky se mohou projevit již při mnohem nižších dávkách. Důvodem může být nedostatek obranných mechanismů jako je například u dospělých jedinců přítomnost detoxikačních enzymů, hematocefalická bariéra či mechanismus opravy DNA (Costa et al., 2014, Magnusson et Persson, 2015).

Mnoho jednotlivých reprodukčních poruch, často spojených s expozicí jedné chemické látky, může mít samo o sobě jen malý biologický dopad na organismus. Je ale nutné poznamenat, že většinou je organismus vystaven směsi těchto chemikálií. Ty se mohou vzájemně doplňovat, a tak buď zvýšit účinek na jednotlivé fyziologické procesy, nebo iniciovat řadu oddělených disruptivních efektů. Jejich kombinace pak může mít ještě mnohem závažnější dopad na reprodukční funkce a systém (Fowler et al., 2012).

Důležité je také poznamenat, že reprodukční funkce samice jsou závislé na funkčních a navzájem správně spolupracujících součástech: neuroendokrinní soustavě, konkrétně hypotalamo-hypofýzo-gonadní ose, a reprodukčním traktu, zejména vaječnících, ale i vejcovodu a dělohy. Expozice endokrinních disruptorů sice může mít přímý vliv pouze na některou z těchto složek, avšak její dysfunkce pak může dále ovlivňovat i ostatní části těchto navzájem komunikujících soustav a způsobit tak daleko rozsáhlejší narušení reprodukčních funkcí a celé soustavy (Zama et Uzumcu, 2010).

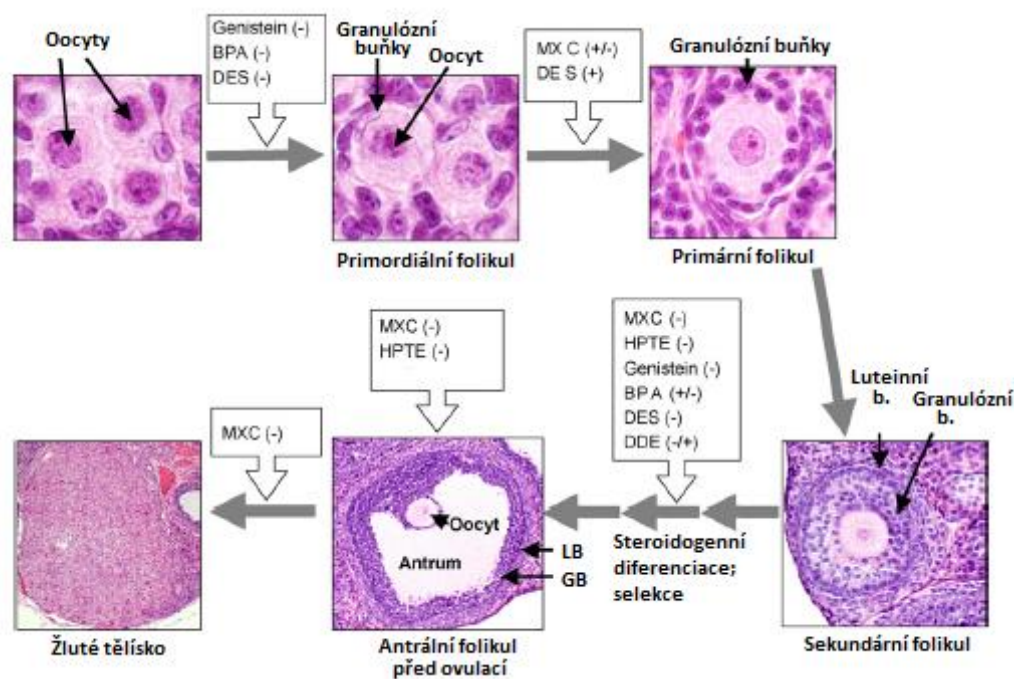
3.3.1 Účinky endokrinních disruptorů na reprodukční orgány samice

Normální reprodukční funkce jsou závislé na hypotalamické regulaci pohlavních žláz prostřednictvím sekrece hormonu GnRH a hypofyzární regulaci pomocí gonadotropinů, luteinizačního hormonu (LH) a folikulostimulující hormon (FSH), které pak ovlivňují funkce vaječnicků (Bellingham et al., 2012). Endokrinní disruptory ovlivňují hypotalamo-hypofyzárně-gonádní osu na všech úrovních. Je tedy mnoho způsobů, jak mohou být reprodukční funkce a orgány těmito látkami narušeny (Brevini et al., 2005).

Na hypotalamo-hypofyzárně-gonádní ose je klíčovým hormonem GnRH, který ovlivňuje sekreci gonadotropních hormonů. GnRH je regulován kisspeptinem, proteinem, jež dává signál k produkci tohoto řídícího hormonu. V mnoha studiích byla pozorována citlivost kisspeptinu na různé chemické látky. Bylo zjištěno, že neonatální expozice genisteinu má za následek snížení jeho reaktivity, což vede ke zhoršení zpětné vazby mezi GnRH a steroidními hormony (Fowler et al., 2012, Gore, 2008).

Organismus je většinou vystaven působení více endokrinních disruptorů najednou a v různém období života, proto jsou účinky na osu velmi různorodé. Například oktylfenol způsobuje při expozici v prenatálním období u ovcí přímé potlačení sekrece gonadotropinů, ale postnatální expozice není spojena s takovými účinky. Naopak vystavení ovcí jiným látkám, jako BPA či methychlor, má vliv na sekreci gonadotropinů v dospělosti (Fowler et al., 2012).

V reprodukčním systému je endokrinně regulovaný vaječník jedním z hlavních cílových orgánů pro projev účinků endokrinních disruptorů. Vzhledem k tomu, že endokrinní disruptory jsou i uvnitř folikulů na vaječnicku, ovlivňují i vývoj oocytů a přilehlých somatických buněk (Petro et al., 2012). Následky působení těchto látek jsou mimo jiné závislé na vývojovém stádiu folikulu, ve kterém k expozici došlo (Brevini et al., 2005). Pokud byly narušeny oocyty v primordiálním či primárním folikulu, může to mít později vliv na reprodukci tím, že nebudou schopny ovulovat. Naopak pokud chemická látka účinkuje na rostoucí či zralý, Graafův folikul, reprodukční funkce může být jen dočasně narušena, protože folikul může být nahrazen jinými, nezralými folikuly (Pocar et al., 2003).



Obrázek 11 – Stimulační (+) a inhibiční (-) účinky vybraných endokrinních disruptorů na jednotlivé fáze vývoje folikulů; BPA (Bisfenol A), DES (diethylstilbestrol), DDE (metabolit DDT), MXC (methoxychlor) a jeho metabolit HPTE (převzato z: Zama et Uzumcu, 2010)

Ve studiích zabývajících se účinky bisfenolu A na reprodukční soustavu bylo zjištěno, že má vliv na funkci vaječníků, kvalitu oocytů a způsobuje defektní folikulogenezi (Žalmanová et al., 2016). Další výzkumy týkající se tohoto syntetického endokrinního disruptoru na zvířecích modelech prokázaly, že může způsobovat syndrom polycystických vaječníků, který se vyznačuje chronickou anovulací (Cosat et al., 2014). Některé endokrinní disruptory mají také vliv na snížení celkové hmotnosti vaječníků.

Různými způsoby mohou endokrinní disruptory ovlivňovat také steroidogenezi neboli syntézu pohlavních hormonů ve vaječnicích. Bylo například pozorováno, že expozice vysokých dávek DDE, hlavního metabolitu pesticidu DDT, vede ke snížení syntézy cAMP, enzymu, který funguje jako druhý posel při navázání ligandu na receptory granulózních buněk. To má za následek nedostatečnou buněčnou odezvu a omezení steroidogeneze, u samic tedy estrogenu a progesteronu (Craig et al., 2011). Z pohledu steroidogeneze je zásadní také vliv bisfenolu A na aromatázu, klíčový enzym pro syntézu estradiolu. Tato chemická látka mění expresi aromatázy a způsobuje pokles její aktivity (Žalmanová et al., 2016). Narušení syntézy steroidních hormonů ve vaječnicích může mít fatální důsledky a vést až k celkovému selhání vaječníků a narušení endokrinní rovnováhy (Brevini et al., 2005).

Endokrinní disruptory narušují hladinu hormonů nejen působením na jejich syntézu a metabolismus, ale mohou také zasahovat do hormonální signalizace prostřednictvím specifických receptorů a tím mimo jiné narušovat funkce vaječnicků. Například fytoestrogeny mají mnohem vyšší afinitu k estrogenovým receptorům než přirozené estrogény (Craig et al., 2011). Také u pesticidů a dalších látek bylo prokázáno, že výrazně ovlivňují vaječnický prostřednictvím estrogenních receptorů a mohou tak působit jako agonisté či antagonisté. Například některé metabolity methoxychloru mohou působit jako agonisté ER α , který je zastoupen v reprodukčním traktu zejména v děloze, a zároveň antagonisticky na ER β , který má zase převahu ve vaječnicích, konkrétně granulóznicích buňkách, čímž narušují funkce přirozených hormonů (Craig et al., 2011, Singleton et Khan, 2003).

Endokrinní disruptory mají vliv i na dělohu. Byl prokázán vliv BPA na narušení apoptózy děložního epitelu během říje a tvorbu benigních a maligních lézí v děloze (Žalmanová et al., 2016). V případě vystavení gravidních matek diethylstilbestrolu byl u jejich dcer zvýšený výskyt děložních abnormalit a vzácných druhů rakoviny (McLachlan et al., 2006). Některé endokrinní disruptory také mohou zapříčinit vznik endometriózy (Hrubá, 2009).

Kromě reprodukčních poruch způsobují endokrinní disruptory i jiná zdravotní poškození, jako jsou nervové a psychické poruchy či imunitní narušení. Bylo prokázáno, že BPA způsobuje řadu hormonálních poruch a může mít hepatotoxické, neurotoxické, mutagenní, karcinogenní a teratogenní účinky (Hrubá, 2009, Vrbík et al., 2016). Dále například ftaláty se podílejí na rozvoji metabolických onemocnění např. obezity, diabetu, arteriální hypertenze a dyslipidemie. Také pravděpodobně zvyšují riziko vzniku alergií, astmatu a vývojových vad (Vrbík et al., 2016).

3.3.2 Účinky endokrinních disruptorů na pohlavní cyklus, plodnost a březost

U pohlavně dospělých samic dochází k periodicky se opakujícím reprodukčním cyklům, jež jsou řízeny hormonálně, a tudíž také potenciálním cílem pro endokrinní disruptory. Bylo prokázáno, že zvýšená koncentrace xenoestrogenů v těle samice může hormonální řízení ovlivnit prostřednictvím zpětnovazebných mechanismů na ose hypothalamus-hypofýza-gonády (Pocar et al., 2003). Výsledné narušení přirozené hladiny hormonů pak vede k nežádoucím důsledkům, jako je nedostatečná hladina estrogenů, předčasné ovariální selhání, nepravidelný cyklus, neplodnost či neschopnost ovulace (Craig et al., 2011). Pro vyvolání ovulace jsou

klíčové preovulační GnRH/LH vlny. Luteinizační hormon se totiž podílí na zahájení meiózy oocyty a prasknutí zralého folikulu (Gore, 2008).

Narušení hormonálního řízení tedy vede k dysregulaci reprodukčního cyklu (Costa et al., 2014). Příkladem může být vliv methoxychloru, pesticidu používaného jako náhrada za DDT. V několika studiích bylo zjištěno, že vystavení methoxychloru zasahuje do normálního estrálního cyklu, způsobuje jeho nepravidelnost, zkracování, prodlužování, či úplné vymizení reprodukčních cyklů, a také snižuje pud k páření (Zama et Uzumcu, 2010). Bylo dokázáno, že prenatalní vystavení fytoestrogenům či BPA zvyšuje trvání estrálního cyklu u dospělých myší. Perinatální působení BPA může zase způsobit nepravidelnost a předčasné přerušení cyklické činnosti v důsledku změny v hypotalamickém řízení sekrece LH a ovulace (Costa et al., 2014). Také mykotoxiny mohou mít vliv na pohlavní cyklus. Například expozice zearalenonu u dospělých prasnic vede k prodloužení délky cyklu až anestrus. Nepůsobí však na hormonální řízení pomocí gonadotropinů, ale přímo na vaječníky, kde způsobuje přetrvávání žlutého tělíska (Kanora et Maes, 2009).

Účinky endokrinních disruptorů mají fatální dopad také na plodnost zvířat a lidí. Důležitým faktorem plodnosti je prenatalní vývoj oocytů. Ve studii zabývající se vlivem pesticidů DDT, HCH a MXC na zrání bovinního oocyty bylo zjištěno, že čím vyšší dávka chemické látky na oocyt působí, tím vyšší je procento oocytů, které v průběhu prenatalního zrání degenerují. V porovnání s neexponovanými vzorky to bylo až o 60 % více degenerovaných oocytů. Všechny tři pesticidy ovlivnily průběh meiotického zrání. V závislosti na dávce docházelo ke snížení množství zralých oocytů a zvyšovalo se procento oocytů, které degenerovaly (Alm et al., 1998).

Ve stejné studii byl zkoumán i vliv na schopnost oocytů vystavených působení pesticidů projít všemi vývojovými stádii až do stádia blastocysty. Bylo zjištěno, že i v tomto procesu dochází k projevům endokrinní disrupce, jež mají letální dopad na embryo před implantací. Podle provedených pokusů měli DDT a HCH škodlivý vliv na postfertilizační vývoj a výrazně snížili počty oocytů, které dosáhly stádia blastocysty, a to již ve velmi nízkých koncentracích (Alm et al., 1998).

Účinky endokrinních disruptorů mohou být dále prezentovány na bisfenolu A, který byl zjištěn ve folikulární tekutině, plodové vodě, placentární tkáni a mateřském mléku mnoha domácích zvířat. Bylo prokázáno, že zpomaluje vývoj oocyty do stádia blastocysty, inhibuje

zahníždění oplozeného vajíčka do děložní sliznice a snižuje počty živě narozených mláďat (Choi et al., 2016). Takové účinky byly pozorovány i u zearalenonu. V pokusech na březích prasničkách v raném těhotenství vystavených působení zearalenonu docházelo k časné embryonální smrti. Předpokládá se, že důvodem je vliv tohoto mykotoxinu na sekreční mechanismy endometria, čímž se mění prostředí uvnitř dělohy (Kanora et Maes, 2009).

Vlivem endokrinních disruptorů může docházet ke spontánním potratům. V prvním trimestru je to často vlivem chromozomálních abnormalit, ve druhém trimestru pak vlivem abnormalit dělohy (Hrubá, 2009). Klíčovým faktorem pro udržení těhotenství a včasný porod je hormonální regulace děložní aktivity (Wrobel et al., 2015). Bylo prokázáno, že DDT a některé polychlorované bifenyly (PCB) mají vliv na sekreci prostaglandinů v děloze a mohou tak narušit jejich správný poměr, což je kritické v době březosti. Podle provedené studie zvyšuje DDT sekreci prostaglandinu $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) a zároveň snižuje sekreci prostaglandinu E_2 (PGE_2). Tato nerovnováha má za následek zvýšené myometriální kontrakce a uspíšení regrese žlutého tělíska, což může vést k potratům či předčasným porodům (Wrobel et al., 2009). Některé další pesticidy, jako například aldrin a dieldrin, mohou inhibovat oxytocinem stimulované děložní stahy. To může naopak způsobit zpoždění porodu a porodní komplikace (Wrobel et al., 2015).

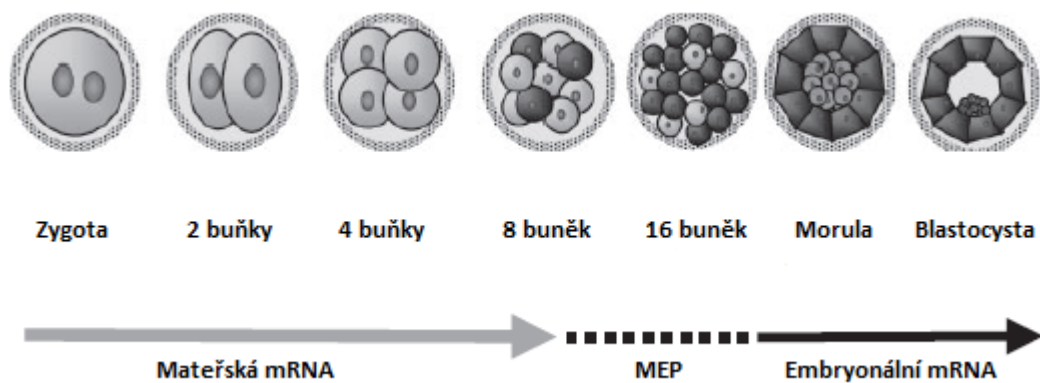
3.3.3 Účinky endokrinních disruptorů na prenatální a postnatální vývoj

Bylo prokázáno, že vyvíjející se embryo a plod jsou mnohem citlivější na endokrinní disruptory než dospělí jedinci a změny v reprodukčním vývoji mohou být pozorovány již v nižších koncentracích (Brevini et al., 2005). V prenatálním období může být plod vystaven působení endokrinních disruptorů zejména díky jejich schopnosti procházet přes placentární bariéru, tzv. transplacentárním přenosem. Tato schopnost je závislá na několika faktorech, a to zejména na druhu chemické látky a na fyziologii matky, plodu, ale také placenty (Petro et al., 2012).

Prenatální období je kritické pro správný vývoj hypotalamo-hypofárně-gonádní osy, která je na efekty endokrinních disruptorů vysoce citlivá. Jejich působení na tento propracovaný neuroendokrinní systém může narušit normální reprodukční vývoj plodu a vést k dysregulaci reprodukčních funkcí, což má vliv i na postnatální vývoj (Bellingham et al., 2012). V několika studiích bylo zjištěno, že u jalovic, které byly v prenatálním období vystaveny endokrinním disruptorům transplacentárním přenosem, se zvyšuje věk dosažený při prvním otelení, dochází

k opožděnému nástupu pohlavní dospělosti či k předčasnému stárnutí reprodukčního systému z důvodu sníženého počtu funkčních oocytů (Brevini et al., 2005, Magnusson et Persson, 2015).

Pro embryonální vývoj je také velmi důležité, zda byl endokrinními disruptory ovlivněn oocyt, ze kterého se embryo vyvíjí. Kritickým obdobím je interval od oplození do aktivace embryonálního genomu, kdy se transkripční aktivita embryonálního genomu stává plně funkční a nezávislá na mateřské RNA. U skotu začíná embryo používat své vlastní mRNA ve fázi, kdy má 8-16 buněk. Do té doby používá mRNA uložené v cytoplazmě oocytu, která však může mít v případě expozice endokrinních disruptorů narušenou stabilitu a následný vývoj embrya je tak vystaven ohrožení a vzniku různých vývojových vad (Brevini et al., 2005).



Obrázek 12 - Schéma zobrazující mateřsko-embryonální přechod (MEP) u skotu (převzato z: Brevini et al., 2005)

K přenosu endokrinních disruptorů z matky na potomka může dojít i po narození. Jelikož savci mobilizují v průběhu laktace velké množství tuku, endokrinní disruptory uložené v tukové tkáni samice se uvolňují a působí tak ve zvýšené koncentraci na samici i novorozence, který je přijímá sáním kontaminovaného mléka (Petro et al., 2012). Pokud je mládě vystaveno vyšším dávkám fytoestrogenů přes mateřské mléko, může to vést k abnormalitám jeho reprodukčních funkcí, včetně snížení plodnosti, dozrávání více folikulů najednou či změnám estrálního cyklu v pozdějším životě (Craig et al., 2011).

4 Závěr

Endokrinní disruptory mají velkou škálu působnosti na různé orgány a jejich funkce prostřednictvím narušování hormonální regulace. Některé tyto látky mohou přirozené hormony v těle napodobovat, jiné zase účinky endogenních hormonů blokují. Vždy je však nějakým způsobem narušena tělesná homeostáza, což vede k různým funkčním poruchám organismu.

Ne vždy však endokrinní disruptory účinkují stejně. V první řadě závisí na druhu látky a jejím chemickém složení. Avšak ani stejné chemické látky nemají na organismus stejný vliv. Velmi záleží na době, kdy k expozici došlo, nejvýraznější efekt pak tyto látky mají v kritických obdobích vývoje. Také dávka, které byl organismus vystaven, je klíčovým faktorem pro odhadnutí dopadu expozice. Ne vždy platí, že čím vyšší dávka, tím větší účinek a naopak. Jelikož je endokrinní systém naladěn reagovat na endogenní hormony již při velmi nízkých koncentracích, i endokrinní disruptory mohou vyvolat účinky již v malé dávce a často má takové chronické působení ještě horší dopad než jednorázová expozice velkou dávkou. Tomuto jevu se říká tzv. low-dose efekt neboli efekt nízké dávky.

Ačkoli mají endokrinní disruptory různé účinky na všechny orgánové soustavy v těle, nejdiskutovanější jsou v oblasti reprodukční soustavy. Mohou negativně ovlivňovat vývoj reprodukčních orgánů v prenatálním období tzv. transplacentárním přenosem z matky na plod a mít tak vliv na reprodukční poruchy v pozdějším životě. Může jít například o opožděný nástup pohlavní dospělosti, neplodnost či předčasné stárnutí reprodukčního systému v důsledku degenerace oocytů v průběhu jejich zrání.

Také po celý postnatální život jsou lidé a zvířata prakticky neustále vystaveni působení koktejlu endokrinně disruptivních látek, jež jsou rozšířeny téměř ve všech složkách životního prostředí. Narušují pohlavní cyklus, plodnost, u březlých samic vývoj embrya a jeho zahnízdění, způsobují předčasné ukončení březosti, potraty a v neposlední řadě mohou způsobovat nezhoubné i zhoubné nádory pohlavních cest.

5 Seznam literatury

Alm, H., Torner, H., Tiemann, U., Kanitz, W. 1998. Influence of organochlorine pesticides on maturation and postfertilization development of bovine oocytes in vitro. *Reproductive Toxicology*. 12 (5). 559-563.

Bacciottini, L., Falchetti, A., Pampaloni, B., Bartolini, E., Carossino, A. M., Brandi, M. L. 2007. Phytoestrogens: food or drug? *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. 4 (2). 123-130.

Bellingham, M., Fiandanese, N., Byers, A., Cotinot, C., Evans, N. P., Pocar, P., Amezaga, M. R., Lea, R. G., Sinclair, K. D., Rhind, S. M., Fowler, P. A. 2012. Effects of Exposure to Environmental Chemicals During Pregnancy on the Development of the Male and Female Reproductive Axes. *Reproduction in Domestic Animals*. 47 (Suppl. 4). 15-22.

Bergman, Å., Heindel, J. J., Jobling, S., Kidd, K. A., Zoeller, R. T. 2013. State of the science of endocrine disrupting chemicals. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. p. 296. ISBN: 9789241505031.

Brevini, T. A. L., Cillo, F., Antonini, S., Gandolfi, F. 2005. Effects of Endocrine Disrupters on the Oocytes and Embryos of Farm Animals. *Reproduction in Domestic Animals*. 40 (4). 291-299.

Burdych, V., Všecká, J., Divoký, L., Brychta, J., Stejskalová, E., Kvapilík, J. 2004. *Reprodukce ve stádech skotu*. Chovservis. Hradec Králové. 72 s.

Cederroth, C. R., Nefe, S. 2009. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 304 (1). 30-42.

Cibulka, J., Fučíková, A., Hartlová, H., Jílek, F., Lánská, V., Sedmíková, M. 2004. *Základy fyziologie hospodářských zvířat*. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. 200 s. ISBN: 9788021312470.

Craig, Z. R., Wang, W., Flaws, J. A. 2011. Endocrine-disrupting chemicals in ovarian function: effects on steroidogenesis, metabolism and nuclear receptor signaling. *Reproduction*. 142 (5). 633-646.

Dellafiora, L., Dall'Asta, C. 2017. Forthcoming Challenges in Mycotoxins Toxicology Research for Safer Food. *Toxins*. 9 (1). 1-14.

Diamanti-Kandarakis E. et al. 2009. Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocrine Reviews* 30(4). 293-342.

Doležel, R., Kudláč, E. 1997. *Veterinární gynekologie*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno. 144 s. ISBN: 8085114046.

Fic, A., Jurković Mlakar, S., Juvan, P., Mlakar, V., Marc, J., Sollner Dolenc, M., Broberg, K., Peterlin Mašič, L. 2015. Genome-wide gene expression profiling of low-dose, long-term exposure of human osteosarcoma cells to bisphenol A and its analogs bisphenols AF and S. *Toxicology in vitro*. 29. 1060–1069.

Fowler, P. A., Bellingham, M., Sinclair, K. D., Evans, N. P., Pocar, P., Fischer, B., Schaedlich, K., Schmidt, J. S., Amezaga, M. R., Bhattacharya, S., O'Shaughnessy, P. J. 2012. Impact of endocrine-disrupting compounds (EDCs) on female reproductive health. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 355 (2). 231-239.

Gore, A. C. 2008. Developmental programming and endocrine disruptor effects on reproductive neuroendocrine systems. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 29(3). 358–374.

Holoubek, I., Čadová, L. 2000. Estrogeny v životním prostředí. *Klinická onkologie*. 13 (Speciál 2000). 25-30.

Hrubá, D. 2009. Endokrinní disruptory (Endocrine disruptors). *Hygiena*. Ústav preventivního lékařství, Lékařská fakulta MU, Brno. 54 (1). 23-26.

Chan, H. J., Petrossian, K., Chen, S. 2016. Structural and functional characterization of aromatase, estrogen receptor, and their genes in endocrine-responsive and –resistant breast cancer cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 161 (2016). 73-83.

Choi, B., Harvey, A. J., Green, M. P. Bisphenol A affects early bovine embryo development and metabolism that is negated by an oestrogen receptor inhibitor. *Scientific Reports* [online] 2016. 6. [cit. 2017-02-02]. Dostupné z <<https://www.nature.com/articles/srep29318>>

Jánošek, J., Hilscherová, K., Bláha, L., Holoubek, I. 2006. Environmental xenobiotics and nuclear receptors – Interactions, effects and in vitro assessment. *Toxicology in Vitro*. 20 (1). 18-37.

- Jelínek, P., Koudela, K. 2003. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Brno. 414 s. ISBN: 8071576441.
- Kanora, A., Maes, D. 2009. The role of mycotoxins in pig reproduction: a review. *Veterinární Medicína*. 54 (12). 565–576.
- Karkola, S., Wähälä, K. 2009. The binding of lignans, flavonoids and coumestrol to CYP450 aromatase: A molecular modelling study. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 301 (1). 235–244.
- Keller, L., Abrunhosa, L., Keller, K., Rosa, C. A., Cavaglieri, L., Venâncio, A. 2015. Zearalenone and Its Derivatives α -Zearalenol and β -Zearalenol Decontamination by *Saccharomyces cerevisiae* Strains Isolated from Bovine Forage. *Toxins*. 7 (8). 3297-3308.
- Kulajová, H., Sýkora, V., Pitter, P. 2007. Látky s estrogením účinkem ve vodách. *Chemické listy*. 101 (9). 706-712.
- Křesinová, Z., Svobodová, K., Cajthaml, T. 2009. Mikrobiální degradace endokrinně disruptčních látek. *Chemické listy*. 103(3). 200-207.
- Louda, F. 2001. Inseminace hospodářských zvířat: se základy biotechnických metod. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. 225 s. ISBN: 8021307021.
- Maćczak, A., Cyrkler, M., Bukowska, B., Michałowicz, J. 2017. Bisphenol A, bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF induce different oxidative stress and damage in human red blood cells (in vitro study). *Toxicology in vitro*. 41 (2017). 143-149.
- Magnusson, U., Persson, S. 2015. Endocrine Disruptors in Domestic Animal Reproduction: A Clinical Issue? *Reproduction In Domestic Animals*. 50 (Suppl. 3). 15-19.
- Marvan, F., Hampl, A., Hložánková, E., Kresan, J., Massanyi, L., Vernerová, E. 2011. Morfologie hospodářských zvířat. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. 304 s. ISBN: 9788021321885.
- McLachlan, J. A., Simpson, E., Martin, M. 2006. Endocrine disrupters and female reproductive health. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 20 (1). 63–75.

- Munier, M., Grouleff, J., Gourdin, L., Fauchard, M., Chantreau, V., Henrion, D., Coutant, R., Schiøtt, B., Chabbert, M., Rodien, P. 2016. In Vitro Effects of the Endocrine Disruptor p,p'-DDT on Human Follitropin Receptor. *Environmental Health Perspectives*. 124 (7). 991-999.
- Petro, E. M. L., Leroy, J. L. M. R., Van Cruchten, S. J. M., Covaci, A., Jorssen, E. P. A., Bols, P. E. J. 2012. Endocrine disruptors and female fertility: Focus on (bovine) ovarian follicular physiology. *Theriogenology*. 78(9). 1887-1900.
- Pitt, J. I. 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins. *British Medical Bulletin*. 56 (1). 184-192.
- Pocar, P., Brevini, T. A. L., Fischer, B., Gandolfi, F. 2003. The impact of endocrine disruptors on oocyte competence. *Reproduction*. 125 (3). 313-325.
- Preedy, V. R. 2013. Isoflavones: Chemistry, Analysis, Function and Effects. The Royal Society for Chemistry. Cambridge. p. 683. ISBN: 9781849734196.
- Reece, W. O. 2010. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. 2. Grada. Praha. 480 s. ISBN: 9788024732824.
- Rubin, B. S. 2011. Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 127 (1-2). 27-34.
- Sedmíková, M. 2003. Mykotoxiny v krmivech – 2. část: Toxické účinky plísní rodu *Fusarium* a rizika jejich výskytu. *Krmivářství*. 7(6). 28-29.
- Senjen, R., Azoulay, D. 2008. Slastná nevědomost o bisfenolu A. *Arnika*. Praha. 50 s. ISBN: 9788025457023.
- Shaw, I. 2009. Endocrine-disrupting chemicals in food. Woodhead Publishing Limited. Cambridge. p. 584. ISBN: 9781845692186.
- Singleton, D. W., Khan, S. A. 2003. Xenoestrogen exposure and mechanisms of endocrine disruption. *Frontiers in Bioscience*. 8(1). 110-118.
- Tao, C., Cheng, H., Zhou, K., Luo, Q., Guo, L., Chen, W. 2012. Preparation and characterization of Biochanin A loaded solid lipid nanoparticles. *Asian Journal of Pharmaceutics*. 6 (4). 275-281.

- Vandenberg, L. N. 2014. Low-Dose Effects of Hormones and Endocrine Disruptors. *Vitamins and Hormones*. 94. 129-165.
- Vandenberg, L. N., Colborn, T., Hayes, T. B., Heindel, J. J., Jacobs, D. R., Lee, D., Shioda, T., Soto, A. M., Saal, F. S., Welshons, W. V., Zoeller, R. T., Myers, J. P. 2012. Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals: Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses. *Endocrine Reviews*. 33 (3). 78–455.
- Vandenberg, L. N., Maffini, M. V., Sonnenschein, C., Rubin, B. S., Soto, A. M. 2009. Endocrine reviews: Bisphenol-A and the Great Divide: A Review of Controversies in the Field of Endocrine Disruption. *Endocrine Review* 30(1). 75-95.
- Vrbík, K., Vavrouš, A., Pavloušková, J., Malý, M., Svačina, Š., Piecha, R., Lacinová, Z., Müllerová, D., Matějková, D., Mráz, M. 2016. Stanovení ftalátů a bisfenolu A a jejich metabolitů v různých typech materiálů. *Klinická biochemie a metabolismus*. 10(3). 153-159.
- Vrzáňová, M., Heresová, J. 2003. Phytoestrogeny. *Interní medicína pro praktické lékaře*. 5(9). 448-451.
- Welshons W. V., Thayer K. A., Judy B. M., Taylor J. A., Curran E. M., vom Saal F. S. 2003. Large Effects from Small Exposures.: I. Mechanisms for Endocrine-Disrupting Chemicals with Estrogenic Activity. *Environmental Health Perspectives* 111(8). 994-1006.
- Wrobel, M., Grzeszczyk, M., Mlynarczuk, J., Kotwica, J. 2015. The adverse effects of aldrin and dieldrin on both myometrial contractions and the secretory functions of bovine ovaries and uterus in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 285(1). 23–31.
- Wrobel, M., Mlynarczuk, J., Kotwica, J. 2009. The adverse effect of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and its metabolite (DDE) on the secretion of prostaglandins and oxytocin in bovine cultured ovarian and endometrial cells. *Reproductive Toxicology*. 27(1). 72–78.
- Wuttke, W., Jarry, H., Seidlová-Wuttke, D. 2010. Definition, classification and mechanism of action of endocrine disrupting chemicals. Department of Endocrinology, University Medical Center Goettingen, Georg-August-University, Germany. *Hormones* 9(1). 9-15.

Zafar, A., Singh, S., Naseem, I. 2017. Cytotoxic activity of soy phytoestrogen coumestrol against human breast cancer MCF-7 cells: Insights into the molecular mechanism. *Food and Chemical Toxicology*. 99. 149-161.

Zama, A. M., Uzumcu, M. 2010. Epigenetic effects of endocrine-disrupting chemicals on female reproduction: An ovarian perspective. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 31 (4). 420-439.

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.