

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Biologie

B-BI



**UNIVERZITA**  
**KARLOVA**

**Anna Štenglová**

Endokrinní disruptory a jejich vliv na vývojovou kompetenci savčího oocytu  
Endocrine disruptors and their impact on mammalian oocyte developmental competence

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Ing. Lucie Němcová, Ph.D.

Praha, 2023

**Charles University**

**Faculty of Science**

## Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala své školitelce Ing. Lucii Němcové Ph.D. za odborné vedení práce, její čas, přístup a zejména za trpělivost. Dále bych ráda poděkovala své rodině, která mě při vytvoření této práce podporovala.

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně z uvedené literatury a na základě konzultací se školitelkou. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Praha 2024

## Obsah

<b>1</b>	<b>Seznam zkratek.....</b>	<b>0</b>
<b>2</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>3</b>	<b>Endokrinní disruptory.....</b>	<b>2</b>
<b>3.1</b>	<b>Rozdělení endokrinních disruptorů.....</b>	<b>2</b>
3.1.1	Polybromové difenylethery (PBDE).....	3
3.1.2	Polychlorované bifenyly (PCB).....	3
3.1.3	Diethylstilbestrol, DES.....	4
3.1.4	17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2).....	4
3.1.5	Bisfenol A (BPA).....	4
3.1.6	Ftaláty.....	5
3.1.7	Atrazin.....	6
3.1.8	Methoxychlor (MXC).....	6
3.1.9	Vinklozolin.....	7
3.1.10	Fytoestrogeny.....	7
3.1.11	Genistein.....	8
<b>4</b>	<b>Regulace EDs v životním prostředí.....</b>	<b>8</b>
4.1	U.S. EPA.....	9
4.2	Stockholmská konvence.....	9
4.3	OSPAR.....	10
<b>5</b>	<b>Endokrinní systém.....</b>	<b>10</b>
5.1	Endokrinní žlázy.....	11
	Endokrinní žlázy jsou rozmístěny po celém těle, produkují hormony, které jsou vpuštěny do oběhového systému a plní funkci signálních molekul. Endokrinní žlázy se od exokrinních odlišují nepřítomností duktů a sekrecí hormonů přímo do krve. Mezi nejvýznamnější endokrinní žlázy řadíme například hypothalamus, hypofýzu, štítnou žlázu, brzlík, nadledvinky, u mužů varlata nebo v případě žen vaječníky a placentu (během těhotenství) (obr.1).....	11
5.2	Osa hypothalamus – hypofýza – gonády (HHG).....	11
<b>6</b>	<b>Vývoj oocyty.....</b>	<b>13</b>
6.1	Zrání oocyty.....	13
6.1.1	Zralý oocyt.....	13
6.2	Vývoj folikulu.....	14
6.3	Steroidogeneze.....	15
<b>7</b>	<b>Působení EDs na organismus.....</b>	<b>16</b>
7.1	Působení EDs na reprodukční systém.....	16

7.1.1	Vliv EDs na ovária.....	17
7.1.2	Působení EDs na oocyty.....	17
7.1.3	Vliv EDs na steroidogenezi.....	18
7.1.4	Meiotické defekty způsobené expozicí EDs.....	18
7.1.5	Estrogenní receptory.....	18
<b>8</b>	<b><i>Epigenetický vliv EDs.....</i></b>	<b>19</b>
<b>8.1</b>	<b>Multigenerační a transgenerační epigenetická dědičnost.....</b>	<b>19</b>
<b>8.2</b>	<b>Epigenetické efekty způsobené EDs v reprodukčním systému.....</b>	<b>20</b>
<b>9</b>	<b><i>Závěr.....</i></b>	<b>21</b>
<b>10</b>	<b><i>Seznam použité literatury.....</i></b>	<b>22</b>

# 1 Seznam zkratek

EDs	endokrinní disruptory	ER $\alpha$	estrogenní receptor podjednotky $\alpha$
PBDE	polybromové difenylethery	ER $\beta$	estrogenní receptor podjednotky $\beta$
AHFR	alternativní halogenové zpomalovače hoření	AhR	aryl uhlovodíkový receptor
PCB	polychlorované bifenyly	StAR	akutní regulační protein
IARC	mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny		
DES	diethylstilbestrol		
EE2	17 $\alpha$ -ethinylestradiol		
BPA	bisfenol A		
BPS	bisfenol S		
BPF	bisfenol F		
MXC	methoxychlor		
DDT	dichlorodifenyltrichlorethan		
WHO	Světová zdravotnická organizace		
POPs	perzistentní organické polutanty		
U.S. EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí		
HHG	osa hypothalamus – hypofýza – gonády		
GnRH	hormon uvolňující gonadotropiny		
LH	luteinizační hormon		
FSH	folikulostimulační hormon		
hCG	choriový gonadotropin		
GnRHR	receptor pro hormon uvolňující gonadotropiny		
LHCGR	receptor luteinizačního hormonu		
FSHR	receptor folikulostimulačního hormonu		
PGC	primordiální zárodečné buňky		
GV	germinální váček		
COC	kumulus – oocyt komplex		
cAMP	cyklický adenosin monofosfát		
PKA	protein kináza A		

## 2 Úvod

Mnoho vyrobených chemikálií nebo přirozeně se vyskytujících, mohou ovlivňovat hormonální hladiny nebo jejich syntézu, metabolismus, popřípadě vazbu na receptor. Exogenní chemikálie disponující schopností narušovat endokrinní systém živočichů se nazývají endokrinní disruptory (EDs). Tyto látky byly detekovány ve velkém množství každodenních produktů, zahrnující plastové lahve, obaly, krabičky od jídla, hračky pro děti, zpomalovače hoření, kosmetiku a hnojiva. Většina EDs je lipofilního charakteru, mají schopnost akumulace v organismu nebo v prostředí. Významné hodnoty jejich koncentrací byly naměřeny ve vodě, vzduchu, půdě, potravinách a ve spoustě dalších přírodních médií. Organismy se chemikáliím nejpravděpodobněji vystaví pozřením, inhalací nebo průnikem přes kůži. Vlivem EDs je pozorováno více problémů zejména v oblasti mozku, vývoje nebo reprodukční soustavě. V současné populaci přibývá více onemocnění a potíží v reprodukčním systému, v případě mužů i žen. Nynější údaje tvrdí, že jedna z devíti žen v reprodukčním věku se potýká s fertilitními potížemi. Nejčastějšími důvody těchto problémů bývají různá onemocnění (endometrióza, syndrom polycystických ovarií, diabetes nebo sexuálně přenosné nemoci), ale velké množství studií poukazuje na negativní vliv EDs nejen na samičí reprodukční systém a některé studie odkazují dokonce na souvislost mezi EDs a onemocněními. Vyšší hladiny endokrinního disruptoru BPA byly nalezeny u žen s onemocněním zvaným syndrom polycystických ovarií. V současné době je snaha omezit nebo úplně redukovat produkci chemikálií s endokrinně disruptivním efektem, popřípadě najít vhodnou náhradu, která nebude zatěžovat přírodní prostředí a orgánové soustavy organismů.

### 3 Endokrinní disruptory

Jako endokrinní disruptory (EDs) se označují látky představující globální problém pro životní prostředí a lidské zdraví, konkrétně interakcí s endokrinním systémem. Jsou definovány jako exogenní chemikálie nebo směs chemikálií, které mohou jakkoli ovlivňovat působení hormonů (U.S. EPA, 1998). Endokrinní systém syntetizuje a uvolňuje hormony, které nadále regulují vývoj orgánů a jejich funkci. Většina EDs interaguje s hormony narušením signalizace, syntézy nebo napodobováním hormonů a následnou vazbou na receptor (Wuttke et al., 2010). Opomenout nelze ani epigenetické změny způsobené EDs (Zama and Uzumcu, 2010). Jakéhokoli narušení hormonální činnosti může vést k vývojovým problémům, problémům s plodností a k mnoho dalším abnormalitám. Dle Endokrinologické společnosti vykazuje přibližně tisíc chemikálií endokrinně disruptivní efekty. V kategorii endokrinní disruptory se vyskytují látky jako pesticidy, fungicidy, změkčovadla, průmyslové chemikálie, fytoestrogeny a spousta dalších. Průnik do lidského organismu mají více možnostmi, nejčastěji však požitím, inhalací nebo přes kůži. Většina endokrinních disruptorů je lipofilní a může docházet k jejich akumulaci v tukové tkáni, což vede k dlouhému přetrvávání v těle a jejich obtížnému vyloučení. Načasování expozice je velmi podstatné, nejcitlivější k endokrinní disruptci jsou vyvíjející se plody a novorozenci (Yilmaz et al., 2020).

#### 3.1 Rozdělení endokrinních disruptorů

Skupina známých endokrinních disruptorů je velmi heterogenní. EDs lze rozdělit do skupin z více hledisek – podle jejich výskytu či způsobu působení. Nejvíce uváděné rozdělení je do dvou skupin dle jejich původu. Do první skupiny patří přirozeně vyskytující se EDs, kam řadíme například fytoestrogeny (genistein). Do druhé, rozsáhlejší skupiny řadíme EDs, které jsou syntetizovány neboli uměle vytvořené. Tyto můžeme dělit dále do více skupin:

- a) syntetické látky používané jako průmyslová maziva či rozpouštědla a jejich vedlejší produkt

Jedná se například o polychlorované bifenyly, polybromové difenylethery.

- b) Plasty

Mezi plasty patří známé bisfenoly, konkrétněji například bisfenol A či bisfenol S.

- c) Změkčovadla (např. ftaláty)
- d) Pesticidy (např. atrazin, cypermethrin, methoxychlor, endosulfan)
- e) Fungicidy (např. vinklozolin)
- f) Léky (např. diethylstilbestrol, ethinylestradiol ( $17\alpha$ -ethinyl estradiol))

(Diamanti-Kandarakis et al., 2009)

Níže popsané chemikálie jsou ve studiích nejpoužívanější pro zjištění endokrinně disruptivních efektů na organismus.

### 3.1.1 Polybromované difenylethery (PBDE)

Znečištění prostředí polybromovými difenylethery (PBDE) je celosvětový problém. Jedná se o látky obsažené ve směsích, které zpomalují proces hoření. Zpomalovače se přidávají do plastů, textilních potahů či do nátěrů pro ochranu dřevěných nebo ocelových konstrukcí. Další široké užití zpomalovačů je v oblasti elektroniky například pro elektronické konektory nebo pro izolaci vodičů a kabelů. Použitím zpomalovačů se dosahuje vyšší úrovně požární bezpečnosti (Rahman et al., 2001). Podle několik studií souvisí přítomnost PBDE s horší kvalitou spermií u lidí (Yu et al., 2018). Studie prováděné zase na samčích hlodavcích tvrdí, že výskyt PBDE v organismu způsobuje sníženou spermatogenezi a úbytek váhy nadvarlat (Kuriyama et al., 2005). Vzhledem k hojnému výskytu a toxicitě PBDE, zejména pro volně žijící živočichy, jsou od roku 2009 některé sloučeniny omezeny Stockholmskou úmlouvou (Stockholm convention, 2009). Restrikcí PBDE se jako náhrada začaly používat jiné zpomalovače hoření, konkrétně alternativní halogenové zpomalovače hoření (AHFR). Podobně jako v případě PBDE dochází ale k jejich uvolňování do prostředí a některé studie již porovnávají naměřené hladiny. Díky podobnostem mezi těmito dvěma skupinami látek lze také předpokládat podobné účinky na organismy. Lidé se nejčastěji dostanou do kontaktu s těmito látkami dermální cestou a děti požitím díky vnitřnímu prachu. Naměřené hodnoty AHFR během let již stoupají v různých částech světa, například ve Švédsku, USA a Velké Británii (Yang et al., 2022).

### 3.1.2 Polychlorované bifenyly (PCB)

Polychlorované bifenyly (PCB) byly rozsáhle používány v různých průmyslových odvětvích, zejména v elektrickém, jako přísada zpomalující hoření v mnoha pryskyřicích. K hojnému používání docházelo zejména mezi lety 1930 až do sedmdesátých let dvacátého století, kdy byla omezena jejich produkce (Safe and Hutzinger, 1984) a následně roku 2001 byly zařazeny na seznam perzistentních organických polutantů Stockholmské konvence (Stockholm Convention, 2001). Díky uvolnění PCB do prostředí došlo k jeho vstoupení do potravního řetězce a k detekci i v lidském mléce (Stockholm Convention, 2004). Zvířata a lidé jsou vystaveni účinkům PCB různými cestami jako například dýcháním, jezením, pitím, požitím prachu nebo půdy (Anh et al., 2021). PCB jsou toxické látky a mohou způsobit několik zdravotních komplikací u více organismů, včetně reprodukčních problémů. PCB jsou také od roku 2013



klasifikovány jako látky první skupiny karcinogenní pro lidi Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC) (Stockholm Convention, 2013).

### 3.1.3 Diethylstilbestrol, DES

Diethylstilbestrol, DES (syntetický nesteroidní estrogen) se uvádí jako příklad ED, kdy jeho působení mělo nepříznivý dopad na živočichy (včetně lidí) ve vyvíjejícím se stádiu. Než byl zakázán počátkem 70. let, byl lékaři hojně předepisován těhotným ženám s úmyslem zabránit spontánním potratům a podpořit růst plodu. Po prodělání puberty těchto dětí bylo zjištěno, že DES ovlivňuje vývoj reprodukční soustavy a u dívek způsobuje rakovinu pochvy (U.S. EPA, 2015). I když k předepisování DES těhotným ženám již přes třicet let nedochází, stále můžeme pozorovat nechtěné účinky. Gravidní ženy, které DES užívaly, mají mírně vyšší riziko rakoviny prsu než běžná populace. Strukturální anomálie reprodukčního traktu – neplodnost či problém s početím, se mohou objevovat u žen vystavené DES prenatalně. Muži, kteří byli vystaveni DES v děloze, čelí vyššímu výskytu abnormalit genitálií a zvýšenému riziku rakoviny prostaty a varlat (Schrager, 2004). Ve studii, kdy byly myší oocyty vystaveny účinku DES in vitro, nedošlo k formování prvního polárního tělíska a tím byla narušena maturace oocyty (Ding et al., 2020).

### 3.1.4 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2)

17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) je syntetický estrogen odvozen od estradiolu a hojně používaný jako kombinované perorální kontraceptivum. EE2 je speciálně navržen tak, aby bránil přirozenému reprodukčnímu cyklu nejen u lidí prostřednictvím estrogenového receptoru. EE2 se neúplně rozkládá a během čištění odpadních vod není zcela odstraněn, což vede ke kontaminaci povrchových vod (Caldwell et al., 2008). Již je velmi známo, že obsah EE2 ve vodách negativně ovlivňuje plodnost a reprodukci zejména ryb, například nižší produkcí a kvalitou gamet, feminizací samčích ryb nebo také změnami v chování (Parrott und Blunt, 2005). Díky jeho obsahu ve vodě, může vstoupit EE2 do potravního řetězce přes zalévání rostlin. Ve studii prováděné na myších měly hladiny EE2 během začátku těhotenství vážné důsledky pro přežití a růst plodu (Meyer et al., 2019).

### 3.1.5 Bisfenol A (BPA)

V plastech se vyskytuje bisfenol A (BPA), který patří k nejvíce zmiňovaným estrogenicky aktivním a výrazně používaným EDs při studiích. Nalezneme jej v obalech pro různé účely, například v obalech pro jídlo či pití, nádobí, hračky nebo také předměty používané v lékařství. BPA byl poprvé syntetizován koncem devatenáctého století. Později se bisfenol A stal jedním z nejvyužívanějších látek celosvětově,

díky schopnosti polymerovat a tvořit tak zázračný, lehký, průhledný, levný plast odolný proti nárazům (Eladak et al., 2015). Do lidského systému se nejčastěji dostane přes kůži prostřednictvím papíru (Zalko et al., 2011) nebo skrz potraviny obalené plastovými výrobky. Během nějaké doby proniknou látky do jídla a následně požitím do člověka (Eladak et al., 2015). Laboratorně byl vliv BPA na organismus pozorován zejména na samčích hlodavcích. Již mnoho studií upozorňuje na reprodukční problémy samců v souvislosti BPA. I nižší dávky BPA prenatálně způsobují široký záběr reprodukčních problémů, včetně snížené motility a počtu spermií. U samců jejichž matky byly vystaveny BPA a následně je krmily mateřským mlékem byla pozorována snížená steroidogeneze Leydigových buněk a tím i snížené hladiny testikulárního testosteronu (Richter et al., 2007). U Samičího pohlaví bylo hlášeno narušení periodicity estrálního cyklu společně se sníženou hladin LH v krvi (Rubin et al., 2001). Momentální hlavní snaha je bezpečná náhrada této běžně používané sloučeniny. Jako alternativy se vytvořily sloučeniny jako bisfenol S (BPS) a bisfenol F (BPF). Nicméně další studie odhalují minimálně podobnou toxicitu vůči lidským buňkám jako BPA (Harnett et al., 2021). Analogy jsou používány značně méně než BPA a tím tak zůstává nejběžněji se vyskytujícím bisfenolem v různých substrátech (Xing et al., 2022).

### 3.1.6 Ftaláty

Ftaláty jsou estery kyseliny ftalové, obsahující benzenové jádro se dvěma esterovými skupinami. S rostoucí délkou uhlíkatého řetězce nebo molekulární hmotností klesá jejich rozpustnost ve vodě. Jsou to kapaliny olejovité povahy, rozpouštějící se ve většině organických rozpouštědlech s vysokou teplotou varu. Užívají se jako změkčovadla, přidávají se do polyvinylchloridových výrobků pro zlepšení flexibility a prodloužení životnosti (Przybylińska and Wyszowski, 2016). Do lidského systému se ftaláty dostávají inhalací, požitím nebo i přes kůži během celého života včetně prenatálního období (Blount et al., 2000). Při studii na myších došlo při vyšších dávkách u samic ke snížení estradiolu, prodloužení estrálního cyklu a absenci ovulace, čímž byl narušen vývoj corpus lutea a folikuly přecházely v cysty (Davis et al., 1994). Samčím hlodavcům se snížila hmotnost varlat, produkce spermií a u některých jedinců následovala dokonce atrofie semenných váčků, což vedlo k infertilitě (Kavlock et al., 2006). U lidského druhu jsou k expozici nejvíce náchylné děti, kdy ftaláty ovlivňují hormonální hladiny reprodukčního systému, což vede k předčasné pubertě a vývojovým problémům v této oblasti. U žen mají ftaláty mimo jiné vliv na těhotenství, přesněji na ztrátu plodu, předčasný porod či nižší porodní hmotnost (Wang and Qian, 2021). Toxicitou disponují i metabolity ftalátů a ovlivňují tak fyziologické funkce savců. Na molekulární a buněčné úrovni mohou metabolity působit toxicky na strukturu DNA, genovou expresi, výjimkou není ani poškození enzymů či proteinů nebo změna buněčné signalizace (Zhang et al., 2021).

### 3.1.7 Atrazin

Herbicide atrazin patří k nejvíce používaným, hojně studovaným a kontroverzním pesticidům na planetě, zejména kvůli jeho účinkům na volně žijící zvířata (Rohr, 2021). Herbicide se používá k regulaci růstu zejména jednoletých trav (nejčastěji kukuřice, cukrová třtina) nebo také lze atrazin spojit s golfovými hřišti. Nejpravděpodobněji se lidé herbicide vystaví požitím pitné vody nebo kravského mléka (Urseler et al., 2022). Jako lipofilní herbicide se může atrazin bioakumulovat v tkáních bohaté na tuky (tuková tkáň, mozek, játra nebo ledviny) a za určitých podmínek (laktace) může být mobilizován z tukové tkáně a být sekretován do mateřského mléka (Čajka and Hajšlová, 2003). Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) atrazin kategorizovala jako karcinogenní sloučeninu (IARC, 1999). Účinky na reprodukční systém jsou potvrzeny ze studií na zvířatech, které ukazují, že atrazin narušuje endokrinní systém pro více tříd živočichů. U zvířat byl prokázán vliv atrazinu na změnu hormonálních hladin v krvi, což narušilo jejich schopnost reprodukce. Poškození bylo pozorováno také na ledvinách, játrech a srdci (ATSDR, 2003). Na základě soustavné kontaminace podzemních vod a jejich potenciálních rizik pro lidské zdraví byl v roce 2003 atrazin zakázán v Evropské unii, ale v mnoha zemích je stále využíván (Bethsass and Colangelo, 2006).

### 3.1.8 Methoxychlor (MXC)

Methoxychlor (MXC) je organochlorový insekticid, poprvé syntetizovaný v roce 1893, ale komerčně vyráběn v USA od roku 1946 (Cummings, 1997). Primárně se užívá jako insekticid proti mouchám, komárům, švábům či jinému hmyzu, (Bhardwaj and Saraf, 2020) také se ale používal ve veterinářském prostředí proti ektoparazitům. (U.S. EPA, 2000) Byl nalezen v půdě, sedimentech, vodě, biotě (Stockholm convention, 2020), fyto i zooplanktonu (Kang et al., 2022) stejně jako v lidské krvi, mateřském mléce, placentě a tukové tkáni (Knapczyk-Stwora et al., 2022). MXC funguje jako náhrada za dichlorodifenyiltrichlorethan (DDT), který byl celosvětově používán v 70. letech až do chvíle obav z jeho toxických účinků. V padesátých letech byla prokázána inhibice růstu varlat a sekundárních znaků u kohoutů vlivem DDT (Burlington and Lindeman, 1950). V roce 2006, však Světová zdravotnická organizace (WHO) podpořila vnitřní postřiky DDT pro kontrolu malárie v Africe (U.S. EPA). Spoustu studií ukázalo, že MXC a jeho metabolity inhibují folikulogenezi, růst antrálního folikulu v buněčné kultuře a také zvyšují výskyt folikulární atrezie (Knapczyk-Stwora et al., 2022). MXC má vliv na neplodnost savců, u samic insekticid způsobuje prodloužení estrálního cyklu, neplodnost, sníženou ovariální hmotnost, popřípadě ovariální cysty. Může stejně tak ovlivnit těhotenství, ovulaci a způsobit další změny v reprodukčním systému. Pro ochranu granulóznic buněk před MXC se potencionálně jeví

terapeutický N-acetylcystein (Bhardwaj and Saraf, 2020). Dnes již methoxychlor společně s DDT spadá mezi perzistentní organické polutanty (POPs) Stockholmské konvence.

### 3.1.9 Vinklozolin

Vinklozolin patří mezi nejvíce používané fungicidy v boji proti plísním vyskytující se v ovoci, zelenině a okrasných rostlinách. Díky pravidelné prevenci proti šedým a hnědým skvrnám na ovocných stromech, zelenině, vínu, fazolím, řepky a okrasných rostlin se snadno vstřebává do lidského těla prostřednictvím vody a potravy (Yu et al., 2021). Byla prokázána cirkulace vinklozolinu ve vodě i vzduchu a je tak možný i jeho výskyt na neošetřených potravinách (Baumeister et al., 2002). Vinklozolin narušuje reprodukční systém více způsoby, ale jedná se zejména o jeho anti androgenní aktivitu. Pro tuto vlastnost se fungicid nebo i jeho metabolity často využívají při studiích na savcích jako modely s anti androgenní aktivitou (Kelce et al., 1994). Při gestační vystavení krysích samců vinklozolinem došlo ke snížení syntézy testosteronu, redukcí Leydigových buněk a podpoření autofágie ve varlatech (Wu et al., 2020). I při nízkých hladinách na myších samcích byla pozorována snížená hmotnost prostaty či jiných pohlavních orgánů. V případě vyšší dávky byl pozorován větší rozdíl v hmotnosti pohlavních orgánů, malformace jako například menší velikost penisu a jiné změny urogenitálního systému (U.S. EPA, 2000).

### 3.1.10 Fytoestrogeny

Fytoestrogeny jsou sloučeniny podobné savčímu estrogenu, estradiolu, vázající se na estrogenní receptory s větší preferencí  $\beta$  podjednotky. Primárně pocházejí z rostlin, nejvýrazněji jsou přítomné v různých zelenině, ovoci, obilovinách a zejména v sójových bobech či v náhradách za živočišné bílkoviny jako je tofu nebo tempech, ale některé lze také laboratorně syntetizovat (Sirotkin and Harrath, 2014).

Fytoestrogeny lze rozdělit na základě jejich chemické struktury do více skupin, například chalkony, flavonoidy, isoflavonoidy, lignany, stilbenoidy a další (Dixon, 2004). První myšlenka, že rostliny mohou obsahovat látky s estrogenní aktivitou přišla ve 40. letech minulého století (Bennetts et al., 1946). Ovce, které se pásly na pastvinách, zejména v Austrálii, měly problémy s plodností v důsledku takzvané jetelové nemoci. Komplikace se projevily u samic ve funkci a růstu reprodukčních orgánů zejména v případě dělohy a prsních žláz, společně s pozměněným chováním v období páření (Pope, 1954). Abnormality byly také pozorovány u myších samců, konkrétně v okolí prostaty (Burrows, 1935). Později přišlo vysvětlení ohledně jetelu na těchto pastvinách, který měl vysoké množství těchto látek (Rossiter and Beck, 1966).

### 3.1.11 Genistein

K nejvíce studovaným fytoestrogenům patří genistein, který interaguje s estrogenními receptory. V živočišných buňkách způsobuje řadu efektů, včetně inhibice tyrosin kinázy (Dixon and Ferreira, 2002). Díky své podobné struktuře s  $17\beta$ -estradiolem se genistein (i daidzein) může navázat na estrogenní receptory a řadí se touto schopností do skupiny EDs. U žen genistein zajišťuje změny ve folikulogenezi a steroidogenezi. Nadměrná konzumace genisteinu i daidzeinu může být příčina neplodnosti, způsobená poškozením estrogenních receptorů nebo negativním vlivem na endometrium (Toktay et al., 2020). Genistein je ve studiích také sledován pro potenciální zdravotní benefity v souvislosti prevence rakoviny. V některých buňkách inhibuje buněčnou proliferaci a blokuje buněčný cyklus ve fázi G2 (např. buňky mléčné žlázy), což může přispět k prevenci rakoviny prsu například skrz konzumaci sóji (Cornwell et al., 2004). Neoplastické buňky už nejsou tolik citlivé na přítomnost genisteinu (Singletary et al., 2002). Některé studie ale odkazují na opačné efekty, například byl pozorován zvýšený počet karcinogenem indukovaných krypt v tlustém střevě krys krmenými genisteinem (Dixon and Ferreira, 2002).

## 4 Regulace EDs v životním prostředí

S přibývajícimi hladinami různých EDs v prostředí či organismech souvisí vyšší snaha o jejich regulaci a udržení životního prostředí. S detekcí a regulací chemických sloučenin s negativním působením na organismus či prostředí souvisí zejména následující organizace/ úmluvy. První, Agentura pro ochranu životního prostředí (U.S. EPA) vznikla roku 1970 díky tehdejšímu americkému prezidentu Richardu Nixonovi. Cílem agentury je ochrana lidského zdraví a prostředí. U.S. EPA vlastní laboratoře identifikující problémy životního prostředí a následně informace sdílí s jinými institucemi, snaží se vzdělávat lidi o udržitelnosti životního prostředí a také poskytuje granty institucím zejména s environmentální tematikou (U.S. EPA). Druhá, právně závazná dohoda Stockholmská konvence se zabývá řešením znečištěného prostředí, zejména restrikcí chemických látek nazývaných perzistentní organické polutanty (POPs). Tyto dvě organizace mají za společný cíl chránit životní prostředí společně s lidským zdravím. Spojené státy sice podepsaly Stockholmskou konvenci, nicméně ještě nedošlo k její ratifikaci. Organizace se zaměřují na většinu stejných chemikálií, například všechny pesticidy zveřejněné ve Stockholmské úmluvě jsou regulovány také agenturou (Stockholm Convention). Produkci látek s nepříznivými efekty vůči prostředí vznikla také konvence zvaná OSPAR, zacílená na ochranu mořského prostředí severovýchodního Atlantiku. I tato úmluva se věnuje monitorování a snahám o snížení hladin některých látek s endokrinně disruptivním efektem (OSPAR).

## 4.1 U.S. EPA

Organizace U.S. EPA byla založena druhého prosince roku 1970 americkým prezidentem Richardem Nixonem. V šedesátých letech dvacátého století se začínaly šířit obavy zejména ze znečištění ovzduší a vody v důsledku katastrof. V Kalifornii zamořila ropná plošina pláže miliony vylitými litry ropy, v Ohio následovalo vzplanutí řeky kvůli přítomných chemikálií ve vodě. Tyto události v kombinaci s obavami lidí vedly tehdejšího amerického prezidenta Richarda Nixona k sepsání několika bodů v souvislosti znečištění životního prostředí a jejich následné prezentaci senátu. Na základě doporučení posléze vznikla agentura pro ochranu životního prostředí přesahující předchozí možnosti vládních programů, takzvaná Agentura pro ochranu životního prostředí (U.S. EPA). Hlavním cílem agentury je, jak je již výše uvedeno, chránit životní prostředí a lidské zdraví. U.S. EPA se snaží o zajištění čistého vzduchu, vody a půdy zejména v USA. Usiluje o snížení rizik pro životní prostředí v kontextu kontaminace lepšími dostupnými vědeckými informacemi a kontroluje chemické látky na trhu z hlediska bezpečnosti (U.S. EPA).

## 4.2 Stockholmská konvence

K přijetí Stockholmské konvence došlo, jak již název napovídá ve Stockholmu roku 2001, nicméně v platnost vstoupila až rok 2004 a momentálně na ni již přistoupilo 186 zemí světa. Zpočátku bylo rozpoznáno dvanáct chemikálií působící na lidi a ekosystém, které šlo rozdělit do tří skupin – pesticidy, průmyslové chemikálie a vedlejší produkty. Toto rozdělení se stále uvádí, nicméně počet chemikálií na seznamu narostl. Chemikálie, které je potřeba omezovat se uvádějí na seznamu perzistentních organických polutantů (POPs). Některé sloučeniny na seznamu pochopitelně spadají také do kategorie endokrinních disruptorů. Jako POPs jsou označovány organické látky, které se po vypuštění do prostředí projevují specifickými vlastnostmi. V netknutém stavu se díky přírodním procesům široce rozšiřují a v prostředí přetrvávají mnoho let. V potravním řetězci se vyskytují ve vyšších hladinách a tím dochází k jejich akumulaci a toxicitě v žijících organismech (včetně lidí). Konkrétní POPs na Stockholmské listině jsou rozděleny do tří listin (annexů), jedna sloučenina může být uvedena i na více. U sloučenin na první listině (listina A) musí společnosti přijmout opatření, aby při výrobě a použití došlo k eliminaci těchto látek. Společnosti v případě užití nebo výrobě látek na listině B musí nastavit opatření, při kterých dojde k jejich restrikci. Cílem pro společnosti v souvislosti látek na listině C je omezit jejich nechtěné uvolnění a nadále pokračovat v minimalizaci, popřípadě zcela zabránit úniku. (Stockholm convention)

### 4.3 OSPAR

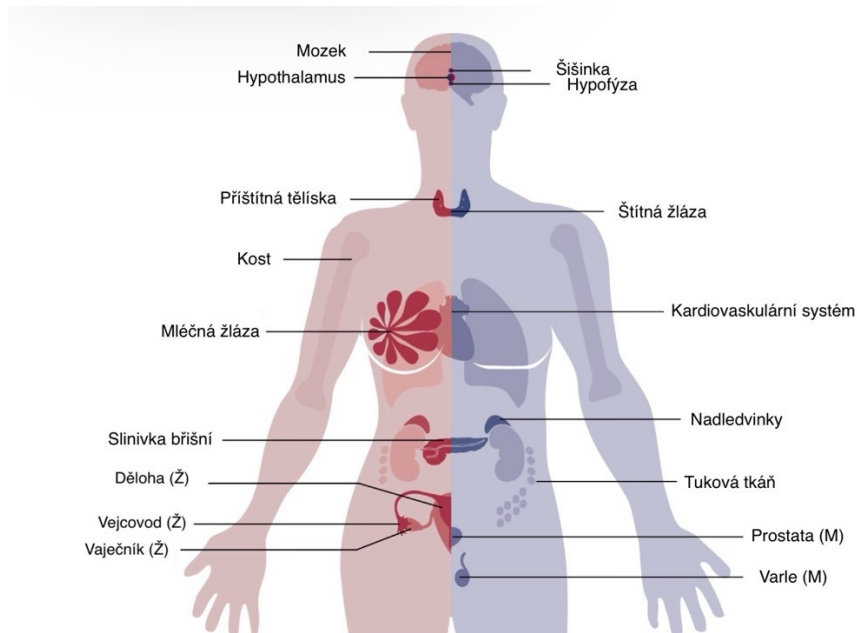
Pro ochranu mořského prostředí severovýchodního Atlantiku vstoupila dne 25. března 1998 v platnost OSPAR konvence. Konkrétní cíl OSPAR konvence je převážně ochrana a zachování severovýchodního Atlantiku, včetně jeho zdrojů. Jedná se o právní nástroj, umožňující řízení mezinárodní spolupráce v oblasti ochrany mořského prostředí severovýchodního Atlantiku. Činnosti řídí takzvaná OSPAR komise, která je složena z 15 vlád a Evropské komise. Název OSPAR vyplývá ze dvou původních konvencí (Oslo a Paříže) z let 1972 a 1974, které byly o dvacet let později sjednoceny a aktualizovány se zaměřením redukovat vypouštění odpadu do moře. Mezi hlavní cíle konvence patří ochrana mořského prostředí před nepříznivými účinky lidské činnosti, popřípadě předcházet či eliminovat znečištění, to vše současně za udržitelného využívání zdrojů. Úmluva obsahuje pět příloh (annexů), které se zabývají různými oblastmi, jako například oblastmi věnující se prevenci a eliminaci znečištění z pozemních, pobřežních zdrojů, nebo znečištění vznikající prostřednictvím skládek či spalování. Předposlední annex se věnuje hodnocení kvality mořského prostředí a poslední pojednává o ochraně a zachování ekosystémů společně s biologickou rozmanitostí mořského prostředí. Monitorované látky se rozdělují převážně do dvou seznamů. Chemikálie určené pro prioritní opatření podléhají podrobnému monitorování a jaká opatření by měla být podniknuta s cílem odvykání se u každé chemikálie posuzují na základě jejich podkladových dokumentů. Na seznam látek s prioritním opatření se uvádí řada látek s endokrinně disruptivním efektem, jako například zpomalovače hoření, PCB, MXC nebo endosulfan. Druhý seznam je věnovaný chemikáliím vzbuzujícím obavy, který rozděluje dále látky do čtyř sekcí – A, B, C, D a i v tomto seznamu substancí se vyskytují látky s endokrinně disruptivním: atrazin, DES nebo EE2 (OSPAR).

## 5 Endokrinní systém

Endokrinní systém je soustava žláz i tkání vyrábějící a sekretující hormony, které v těle dále regulují širokou škálu fyziologických procesů, zejména homeostázu. Zajištění fyziologických hormonálních hladin stojí na interakci žlázy a jejich cílů. Množství syntézy hormonu a jeho uvolnění je dáno spoluprací mnoha molekulárních a fyziologických procesů, včetně regulace genové a proteinové exprese, exocytózy vesikulů obsahující hormony, metabolismu, steroidogeneze lipofilních hormonů, transportem oběhovým systémem, exkrece, degradace a mnoho dalších (Kleine and Rossmanith, 2016). Hladiny hormonů pro nejefektivnější fungování musí být ve fyziologicky relevantním rozmezí. Jakákoli delší doba mimo rozmezí téměř vždy vyústí v dysfunkci nebo nemoc.

## 5.1 Endokrinní žlázy

Endokrinní žlázy jsou rozmístěny po celém těle, produkují hormony, které jsou vpuštěny do oběhového systému a plní funkci signálních molekul. Endokrinní žlázy se od exokrinních odlišují nepřítomností ductů a sekrecí hormonů přímo do krve. Mezi nejvýznamnější endokrinní žlázy řadíme například hypothalamus, hypofýzu, štítnou žlázu, brzlík, nadledvinky, u mužů varlata nebo v případě žen vaječníky a placentu (během těhotenství) (obr.1).



Obr.1: vyobrazení endokrinních žláz v lidském těle, (Ž): ženy, (M): muži (převzato a upraveno z Gore et al., 2015)

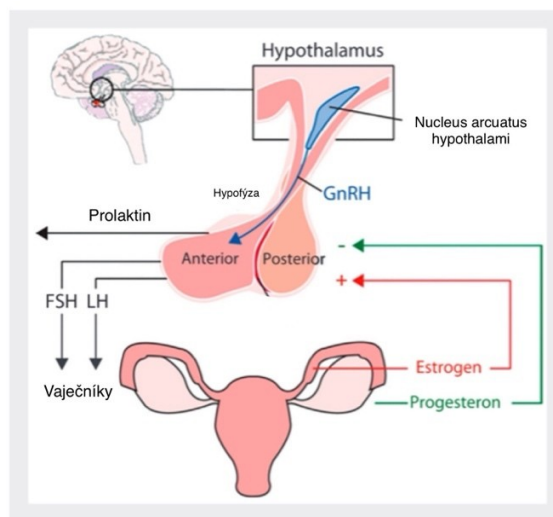
## 5.2 Osa hypothalamus – hypofýza – gonády (HHG)

Hormonální regulaci v endokrinních orgánech řídí mozek. Po zpracování signálů v neurosekrečních buňkách hypothalamu se uvolní hormon (hormon uvolňující gonadotropiny – GnRH) do kapilár střední eminence. Odsud se dostanou do hypofýzy, kde jsou uvolněny gonadotropní hormony (luteinizační hormon – LH, folikulostimulační hormon – FSH), které indukují syntézu a uvolnění hormonů (testosteron, estradiol, progesteron) v jiných endokrinních žlázách (gonádách). Tato dráha se nazývá osa hypothalamus – hypofýza – gonády. (Kleine and Rossmanith, 2016) Endokrinní systém zajišťuje pochopitelně více takových drah, kde cílovým orgánem jsou například ledviny nebo štítná žláza. Již spoustu studií odkazuje na abnormality výše jmenovaných os díky expozici EDs. Protože je správná funkce os zvláště citlivá na endogenní hormonální změny, přítomností EDs se mohou narušit fyziologické funkce os a dojít tak k závažným endokrinním změnám. (Graceli et al., 2020)

### 5.2.1 Fyziologie ženského reprodukčního systému



Pro reprodukční zdraví žen jsou stěžejní zejména tři gonadotropní hormony – FSH, LH a v těhotenství choriový gonadotropin (hCG). Oscilující hladiny FSH společně s LH řídí menstruační, popřípadě estrální cyklus. V neuronech hypothalamu dochází k pulzující sekreci GnRH. Z hypothalamu putuje GnRH do přední hypofýzy, kde se váže na svůj receptor –receptor pro hormon uvolňující gonadotropiny (GnRHR), tato vazba vyústí k aktivaci syntézy a následnému uvolnění LH a FSH do oběhu. Odlišující se frekvence uvolňovaného hormonu zajišťují stimulaci odlišných signálních drah a liší se sekretované hladiny FSH a LH. Se zvyšující se frekvencí uvolňovaného GnRH preferenčně dochází k sekreci LH, naopak se snižující se pulzy se více uvolňuje FSH (Thompson and Kaiser, 2014). Sekretované gonadotropní hormony pokračují dále dráhou směrem ke gonádám. Pro každý gonadotropní hormon existuje receptor na plazmatické membráně, odkud se signál přenáší do cílových buněk pomocí různých signálních kaskád. LH a hCG se vážou na receptor luteinizačního hormonu (LHCGR), který je u žen exprimován zejména na thékálních buňkách. Pro FSH se nachází receptor folikulostimulačního hormonu (FSHR) na granulózních buňkách ovárií (Simoni and Huhtaniemi, 2017). V samičích granulózních a thékálních buňkách se následně děje proces zvaný steroidogeneze, kdy dochází k produkci steroidních hormonů. Na základě vytvořeného množství steroidních hormonů funguje zpětná vazba ovarii hypothalamu, v jaké fázi menstruačního cyklu se systém nachází a jaké hladiny gonadotropních hormonů je potřeba syntetizovat. U spousty žen mohou být pozměněny odpovědi na GnRH, tím odlišné sekrece gonadotropinů, což může vyústit v různé reprodukční problémy, jako například amenorea nebo polycystické vaječníky (Thompson and Kaiser, 2014).



Obr.2: osa hypothalamus – hypofýza – gonády u žen (převzato a upraveno z Pennel, 2013)

FSH: folikulostimulační hormon, LH: luteinizační hormon, GnRH: hormon uvolňující gonadotropiny

## 6 Vývoj oocyty

Vývoj oocyty lze rozdělit na tři fáze – fáze množení, růstu a zrání. Začátek vývoje samičích gamet se odehrává již v prenatálním období. Primordiální zárodečné buňky (PGC) se začínají diferencovat do oogonií devět týdnů po oplození, během této diferenciace se téměř dvojnásobně zvyšuje počet oogoniálních mitochondrií v porovnání s těmi v PGC (Motta et al., 2000). Při postnatálním vývoji oocyty procházejí dvěma procesy – růstem a zrání, během kterých dochází k hromadění mRNA, proteinů a organel (Collado-Fernandez et al., 2012). Nové oogonie v postnatálním vývoji už nevznikají, část oogonií je ale atretická a část vstupuje do prvního meiotického dělení, během něhož vznikají primární oocyty. V této době začíná proces růstu a v diplotene profáze I je oocyt pozastaven až do puberty (může být pozastaven i 40 let). S nástupem puberty a hormonálním působením (FSH, LH) dochází k produkci folikulární tekutiny a celá dutina folikulu je jí vyplněna. Následuje návrat do prvního meiotického dělení a vznik sekundárního oocyty společně s vyloučením prvního polárního tělíska. Sekundární oocyt je dále připravován k ovulaci zráním a růstem folikulu. V této fázi dochází k druhému meiotickému dělení a jeho zastavení v metafázi II. V druhé metafázi je oocyt u většiny savců připravený k oplodnění a následuje dokončení homeotypického dělení. Vývojová kompetence oocyty je schopnost oocyty obnovit i dokončit meiózu a podporovat embryonální vývoj po oplodnění (Chian et al., 2017).

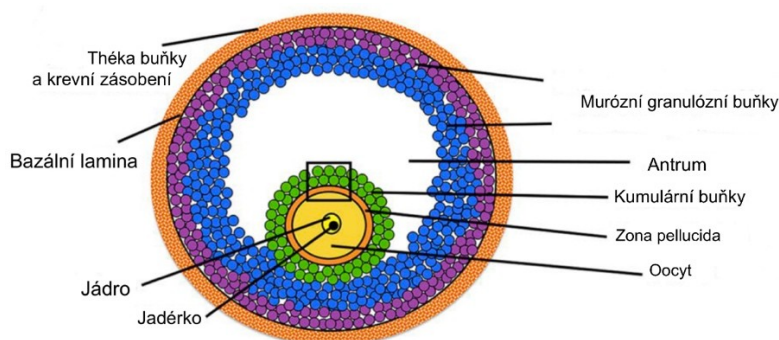
### 6.1 Zrání oocyty

K proběhnutí oplození a následnému vývoji embrya bez potíží, musí být oocyt kvalitní. Aby mohlo být dosaženo zralých a kompetentních oocytů, musí proběhnout dva procesy – jaderné a cytoplazmatické zrání (Swain and Pool, 2008). Maturaci oocyty zahajuje cytoplazmatické zrání produkcí specifických faktorů, reorganizací organel a posttranskripčními modifikacemi mRNA. Jaderné zrání začíná po pokračování meiózy po arestu oocyty v profázi I, aby došlo k vytvoření haploidních komplement z diploidního stavu. Při procesu jaderného zrání dochází hned k několika událostem. Jaderná membrána se rozpouští a nukleus se uvolňuje z germinálního váčku (GV), následuje kondenzace chromatinu do bivalentů, jejich vyrovnání a kompletní separace v metafázi II (Heikinheimo and Gibbons, 1998).

#### 6.1.1 Zralý oocyt

Během vývoje oocyty vznikají a vyvíjejí se pochopitelně i jeho obaly. Ve stádiu primárního oocyty je pozorovatelná první vrstva kuboidálních granulóznych buněk (Picton, 2001). Během folikulárního růstu se formuje zona pellucida, pokračuje proliferace granulóznych buněk a vyvíjí se vrstva thékálních buněk zajišťující krevní zásobení folikulu (Young and McNeilly, 2010). Formace antrální dutiny provází

diferenciaci granulózních buněk na dvě buněčné populace. Na zonu pellucidu přiléhají kumulární buňky zajišťující podporu maturace a metabolismu oocyty. Druhá kolonie buněk, takzvané murální granulózní buňky zajišťují endokrinní funkce. Oba tyto buněčné typy formují komplex kumulus – oocyt (COC) (Collado-Fernandez et al., 2012).

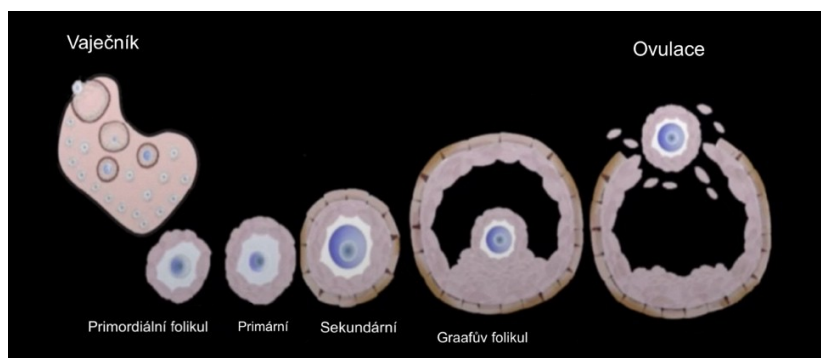


Obr.3: Schéma antrálního folikulu myši (převzato a upraveno z Baena a Terasaki, 2019)

## 6.2 Vývoj folikulu

S vývojem oocyty a steroidogenezí souvisí úzce vývoj folikulů. U různých organismů je nástup a vývoj folikulogeneze společně s oogenezí proměnlivý, u krav se například popisuje více stádií preantrálních folikulů dle velikosti (Palma et al., 2012). Vývoj popsany níže se vztahuje na lidi. Nejmenší a nejpočetnější stádium se nazývá primordiální folikul, na oocyt přiléhá jedna vrstva granulózních buněk. Následuje primární folikul obklopený granulózními buňkami kubického tvaru. Vývoj granulózních buněk nadále pokračuje do více vrstev ve stádiu sekundárního folikulu, společně s formací antrální dutiny, thékálních buněk a začínající produkcí androgenů v nízkém množství (Fortune, 2003). Následuje stádium antrálního folikulu a finální Graafův folikul, který je připravený k ovulaci. V době ovulace folikul praská a uvolňuje oocyt do první třetiny vejcovodu, kde čeká na oplození. Prasklý folikul se dočasně formuje do útvaru sekretující hormonu, takzvaný corpus luteum (žluté tělísko). Žluté tělísko je známé zejména díky své schopnosti sekretovat hormon progesteron. Jeho všeobecná funkce je připravit tělo na zahájení a udržení těhotenství. Cirkulující progesteron v těle cílí do oblasti osy hypothalamus – hypofýza. Blokuje hladiny GnRH z hypothalamu, snižuje množství jeho receptorů v hypofýze, což má za následek nižší uvolňování gonadotropinů (zejména LH) a zabraňuje tak další ovulaci (Niswender et al., 2000). Bez dalších stimulů přetrvává tělísko maximálně 14 dní a vlivem nedostatku LH zaniká. Během těhotenství je žluté tělísko stimulováno choriovým gonadotropinem produkovaným placentou a sekretuje progesteron až do konce těhotenství. Mimo jiné stimuluje také růst a sekreční schopnosti dělohy, nadále podporuje vyvíjející se embryo a ovlivňuje vývoj mléčných žláz (Reynolds and Redmer, 1999). Vlivem EDs

dochází k narušení folikulogeneze ve více stádiích, výjimkou není ani snížený počet primárních nebo sekundárních folikulů (Xu et al., 2010). In vitro byla prokázána inhibice růstu myších antrálních folikulů, (Peretz et al., 2011) stejně jako jejich atrezie zvýšenou expresí proatretického faktoru (Peretz et al., 2012). Navíc u žen procházející léčbou neplodnosti, byly hladiny BPA v moči spojovány se sníženým počtem antrálních folikulů a získaných oocytů (Souter et al., 2013).

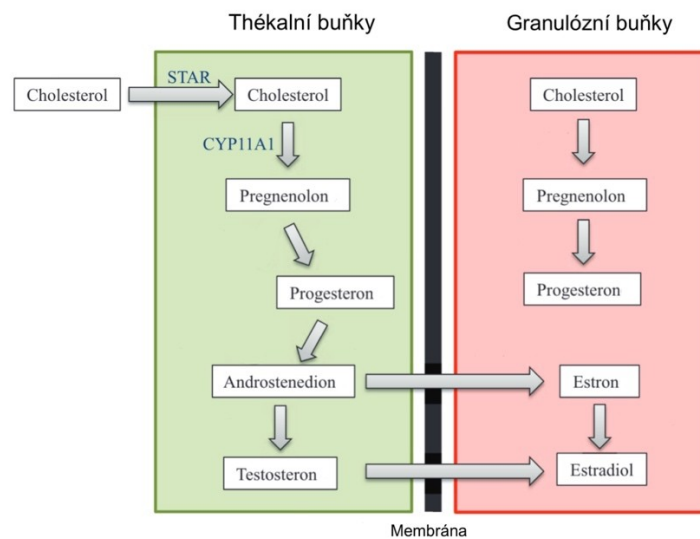


Obr. 4: vývoj folikulů, (převzato a upraveno z Reprodukční biologie, Bartková)

### 6.3 Steroidogeneze

Proces steroidogeneze v ovariích je klíčový pro ženský fenotyp a regulaci procesů zahrnující vaječníky, včetně maturace oocytů, oogeneze, růstu folikulů a ovulace. Folikulogeneze je vícestupňový proces, který vyžaduje načasované endokrinní signály, zejména gonadotropiny uvolňované z hypofýzy a metabolické hormony. Tyto hormony působí na receptory spolu komunikujících granulózních nebo thékálních buněk a spouštějí autokrinní či parakrinní signální dráhy, vedoucí k syntéze a sekreci steroidů (Glister et al., 2003). Začínající látka pro syntézu steroidů je cholesterol. LH se váže na receptor LHR lokalizovaný v thékálních buňkách, čímž stimuluje vychytávání cholesterolu pomocí zvyšující hladiny cyklického adenosinového monofosfátu (cAMP), (Marsh, 1976) která vede k aktivaci protein kinázy A (PKA) (Stocco and Clark, 1996). Následuje transport vychyteného cholesterolu na vnitřní membránu mitochondrií akutním regulačním proteinem (StAR) (Clark et al., 1994). Konverze cholesterolu na progesteron v mitochondriích zajišťuje enzym CYP11A1 (z rodiny cytochromu P450), (Hu et al., 2004) odkud následně difúzuje do endoplazmatického retikula, kde může být konvertován na progesteron a následně na androstenedion (Hanukoglu, 1992). Stále ještě v thékálních buňkách může proběhnout konverze na již známější testosteron nebo jako odpověď na LH difúzuje androstenedion do granulózních buněk, stejně jako následně testosteron. FSH stimuluje již granulózní buňky a testosteron může být aromatizován na

17 $\beta$ -estradiol, v případě androstenedionu dochází aromatázou k jeho konverzi na meziprodukt estron (Fowler et al., 1978).



Obr.5: ovariální steroidogeneze, (převzato a upraveno z Hannon and Flaws, 2015)

## 7 Působení EDs na organismus

Vlastnost EDs narušovat endokrinní systém je široce rozsáhlá u více skupin živočichů, včetně plazů, ptáků, ryb, bezobratlých, a právě také savců. EDs mají vliv na hormonální receptory, syntézu, signální dráhy, metabolismus a mohou také modifikovat samotné hormonální funkce. EDs ovlivňuje systém napodobováním, antagonizací, změnou hladin hormonů, změnou rychlosti jejich syntézy či exprese, nebo působením na receptory. Hojně studované jsou také epigenetické mechanismy na organismech vystavené EDs. EDs jsou látky v organismech hojně spojovány s reprodukčními problémy, (Darbre, 2021) rakovinou, (Soto and Sonnenschein, 2010) nadále také s problémy kardiovaskulárního, neurologického a metabolického rázu (Changhwan and Jeung, 2023). Způsob působení EDs se mění postupem věku organismu, díky rozdílným fyziologickým hormonálním hladinám (Chmelíková et al., 2018). Vzhledem ke komplikovanosti endokrinního systému je vliv EDs na organismus těžké předvídat.

### 7.1 Působení EDs na reprodukční systém

Ačkoli mají EDs široký záběr působení, reprodukční systém bývá významně náchylný. Ze třídy savců jsou EDs ve studiích nejčastěji vystavováni hlodavci, ale v in vitro podmínkách se užívá spousta buněk či tkání jiných živočichů. Látky s endokrinně disruptivním efektem u samic způsobují narušení

menstruačního či estrálního cyklu, problémy otěhotnět nebo i plod v těle udržet (Lee et al., 2013). Na reprodukční systém cílí EDs konkrétněji v první řadě přes osu hypothalamus – hypofýza – ovaria (Graceli et al., 2020) a tím pochopitelně na vaječníky (Patel et al., 2015). Ve vaječnicích EDs ovlivňují dále folikuly, oocyty, (Pocar et al., 2003) a k nim patřící steroidogenezi (Hannon et al., 2015). Opomenout nejdou ani epigenetické efekty způsobené expozicí EDs (Rattan and Flaws, 2019). Vyšší naměřené hladiny BPA v ženském těle se často dávají do souvislosti s onemocněním, nazývaným syndrom polycystických ovarií. Stále častěji se objevující onemocnění se projevuje zejména nepravidelným menstruačním cyklem způsobený neschopností ovulace a s vyššími hladinami androgenů (Nestler, 1997).

### 7.1.1 Vliv EDs na ovária

Protože EDs umí interagovat s endokrinním systémem, mají potenciál zacílit na vaječníky, narušovat ovulaci a tím případně způsobovat neplodnost. Nejvíce na vaječníky působí prostřednictvím HHG osy. Pesticidy s endokrinně disruptivním efektem prokazatelně snižují hmotnost vaječnicků a opožďují jejich vývoj (Gore et al., 2015). Efekty EDs na HHG byly prokázány studiemi in vitro, stejně jako in vivo. Samice vystavené atrazinu projevily nižší hmotnost ovarií, abnormality estrálního cyklu, pozorováno bylo také větší množství atrezovaných folikulů, ztráta corpus lutea nebo nižší frekvence vln LH a FSH (Wirbisky and Freeman, 2015). Konkrétně byl také prokázán vliv PCB a MXC na genovou expresi a sekreci GnRH a studie in vivo poukazuje na ovlivnění GnRH neuronů vystavené fytoestrogenům (Gore, 2008). Expozice BPA a genisteinu způsobila zároveň aktivaci pubertálních stimulatorů (například KiSS1) a inhibici represorů pubertálních procesů, čímž nastal rychlejší nástup puberty (Mueller and Heger, 2014).

### 7.1.2 Působení EDs na oocyty

Výrazný počet studií je vztažený na oocyty vystavené endokrinnímu disruptoru BPA. Expozice BPA prokazatelně snižuje růst folikulů a indukuje folikulární atrezii na myších antrálních folikulech zvýšenou expresí proatretického faktoru (Peretz et al., 2012). Mnoho studií odkazuje na schopnost BPA snižovat kvality oocytů. Konkrétně BPA způsobuje defekty při meiotickém dělení (Hunt et al., 2003) nebo indukuje epigenetické změny, vedoucí k různým chybám v průběhu meiózy či jiným defektům v samičí reprodukční soustavě (Rattan and Flaws, 2019). Vliv BPA sahá také ke steroidogenezi, kde může ovlivnit hladiny pohlavních steroidních hormonů, konkrétní způsobené efekty jsou však odlišné dávkou a druhem organismu. Prokazatelně byl modifikován růst a vývoj folikulů vystavením ftaláty. Studie prováděné na myších poukázaly mimo jiné na urychlení nábory primordiálních folikulů, (Patel et al., 2015) což je proces, při kterém vzniká primární folikul s vrstvou granulózních buněk kubického tvaru.

### 7.1.3 Vliv EDs na steroidogenezi

Dříve se předpokládala hlavní interakce EDs s přirozeným působením hormonů skrz schopnost EDs vázat se na receptory a napodobovat endogenní hormony (Sonnenschein and Soto, 1998). Další studie poukázaly také na změnu syntézy, sekrece nebo eliminaci přirozených hormonů pod vlivem EDs (Gregoraszczuk et al., 2008). Expozicí EDs dochází k rozdílné syntéze hormonů steroidní povahy modifikací exprese a katalytické aktivity steroidogenních enzymů. Efekty EDs na proces steroidogeneze se zjišťují in vitro přesným zacílením na skupinu buněk umožňující steroidogenezi, tedy izolované granulózní nebo thékalní buňky. Pesticidy DDT a DDE s popsaným estrogením působením na ženský reprodukční systém byly naměřeny ve folikulární tekutině (Al-Saleh et al., 2009). Přítomnost pesticidů ve folikulární tekutině je znepokojující zejména blízkým kontaktem buněk, včetně oocyty. Krysy vystavené DDT vykazaly snížené hladiny estradiolu v séru a při vyšší dávce docházelo i ke zvýšené hladině progesteronu (Hoyo et al., 2006). Myši antrální folikuly vystavené BPA odhalily signifikantně snížené hladiny estradiolu, estronu, testosteronu a androstenedionu (Peretz et al., 2011).

### 7.1.4 Meiotické defekty způsobené expoziční EDs

EDs jsou také ve značném množství studií sledovány pro jejich nepříznivé působení na průběh meiózy, což vede k narušení vývojové kompetence oocyty. Mezi nejčastěji objevující se defekty lze zařadit zejména narušení formace dělicího vřeténka, případně neschopnost chromozomů seřadit se do ekvatoriální roviny nebo se navázat na dělicí vřeténko. Chyby nadále nastávají při oddělení polárního tělíska, (Ding et al., 2020) nebo také při opětovném spuštění meiózy, případně některé EDs způsobují meiotický arest. Řada studií naznačuje také aneuploidii vlivem EDs, (Hunt et al., 2003) nicméně v této oblasti jsou studie odlišné (Eichenlaub-Ritter et al., 2008). Nadále prasečí oocyty vystavené BPA in vitro prokázaly pokles schopnosti dosáhnout MII fáze po 44 hodinách kultivace (Mlynarčíková et al., 2009). Myší oocyty vystavené DES po 8 hodinové kultivaci zase odhalily neschopnost chromozomů srovnat se do ekvatoriální roviny a modifikace dělicího vřeténka, konkrétněji například kratší dělicí vřeténka. Beze změny nebyla ani organizace aktinových filament MI oocytů (Ding et al., 2020).

### 7.1.5 Estrogení receptory

Častým cílem EDs bývají jaderné receptory, zejména androgenní receptory a estrogení receptory podjednotky  $\alpha$  ( $ER\alpha$ ) a  $\beta$  ( $ER\beta$ ). Estrogení receptory jsou exprimovány v mnoha lidských buňkách i tkáních a fungují jako ligand dependentní jaderné transkripční faktory, které odpovídají na širokou škálu substancí, nejčastěji hormonálního charakteru. Zajišťují řadu fyziologických funkcí v různých orgánových systémech, zejména v reprodukčním, kardiovaskulárním nebo skeletálním systému (Paterni et al., 2014). Ačkoli estrogení receptory sdílejí podobné mechanismy fungování, bylo rozpoznáno



několik rozdílů v transkripčních schopnostech (Couse and Korach, 1999). V kontextu ženské reprodukční soustavy se ER $\alpha$  nachází zejména v děloze, ve vaječnících, přesněji v thékalních buňkách nebo také v mléčné žláze. Podtyp  $\beta$  najdeme hlavně v granulóznicích buňkách ovarií (Paterni et al., 2014). Interakcí s estrogenními receptory mohou EDs ovlivňovat estrogenní signalizaci. EDs cílící na estrogenní receptory mohou signalizaci ovlivňovat přímo nebo nepřímo přes transkripční faktor, například aryl uhlovodíkový receptor (AhR) nebo modifikací metabolických enzymů, které jsou stěžejní pro estrogenní syntézu a metabolismus (Shanle and Xu, 2011). Estrogenní receptory ER $\alpha$  a ER $\beta$  jsou primárně určeny pro pohlavní hormon 17 $\beta$ -estradiol. Většina EDs disponuje estrogenním působením vůči organismu, například BPA, ftaláty nebo fytoestrogeny (Kiyama and Wada-Kiyama, 2015). Vyšší počet a změna distribuce ER $\alpha$  byla pozorována na oocytech ve fázi MI vystavené DES (Ding et al., 2020). Současné studie se zaměřují zejména na schopnost ER $\beta$  potlačit nekontrolované buněčné proliferace u diagnostikovaných žen s rakovinou prsu (Zhou and Liu, 2020).

## 8 Epigenetický vliv EDs

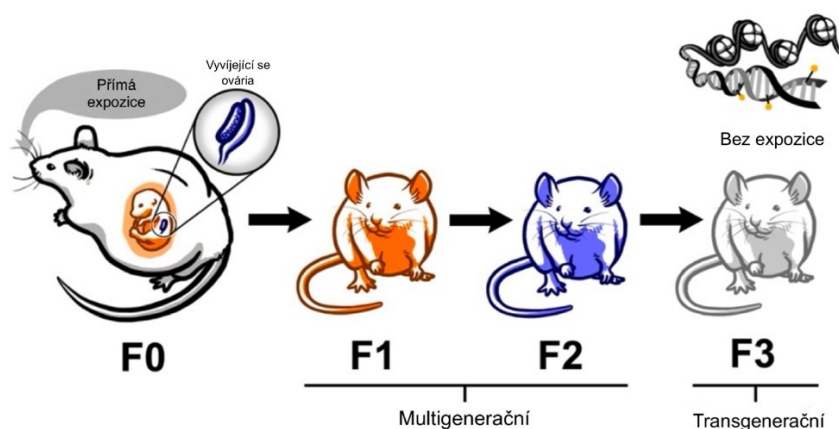
Schopnost EDs způsobit různé nemoci nebo infertilitu je velice znepokojující, nicméně ještě větší záběr problémů může způsobit díky epigenetickým efektům (Skinner, 2008). Termín epigenetika se definuje jako jakýkoliv proces, který mitoticky nebo meioticky přenáší změny ve funkci genu, ale bez modifikace DNA sekvence (Wu and Morris, 2001). Mezi tyto změny se zahrnuje zejména DNA metylace, posttranslační modifikace histonů nebo nekódující RNA (Zama and Uzumcu, 2010). Působením EDs lze pozorovat více epigenetických efektů u orgánů reprodukční soustavy, zejména v případě hypothalamu, dělohy a vaječníků (Rattan and Flaws, 2019). V ovariích EDs mohou narušit dlouhý seznam procesů, včetně formace primordiálního folikulu, růstu folikulu nebo steroidogeneze (Hannon et al., 2015). Některé EDs mohou působit takzvaně transgenerační nebo multigenerační efekty.

### 8.1 Multigenerační a transgenerační epigenetická dědičnost

Jako multigenerační efekt označujeme efekt či fenotyp, který se objevil v generacích přímým působením EDs během vývoje. K pozorování transgeneračního efektu musí být efekt nebo fenotyp zděděn od generace, která během vývoje nebyla přímo vystavená EDs. F0 generace je vystavena EDs přímo během dospělého života. Během této doby zažívá generace F1 expozici prenatálně (jako embryo) a v generaci F2 je expozici vystavena zárodečná linie. Jakékoliv účinky pozorovány v generaci F1 a F2 jsou způsobeny



multigeneračním efektem. U následující generace, F3 generace, se objeví již transgenerační efekt (Skinner, 2008).



Obr. 6: multigenerační a transgenerační efekt (převzato a upraveno z Rattan and Flaws, 2019)

## 8.2 Epigenetické efekty způsobené EDs v reprodukčním systému

Již řada studií byla publikována na téma transgenerační efekty způsobené vystavením EDs během života. Transgenerační efekt při vystavení DES in utero byl pozorován v F3 generaci patnáctileté dívky v podobě karcinomu vaječníku. Nepravidelný cyklus nebo právě karcinomy vaječníků jsou spojovány s vystavením DES u předků, (Blatt et al., 2003) stejně jako častý vaginální adenokarcinom v F1 generaci (Herbst Arthur L. et al., 1971). Vystavení MXC během fetálního nebo neonatálního období vedlo k ovlivnění funkce vaječníků prostřednictvím metylačních změn (Zama and Uzumcu, 2009). U oocytů vystavených endokrinnímu disruptoru BPA byla pozorována zvýšená metylace DNA, která může regulovat expresi genu (Zhang et al., 2012). Další studie odkazují na vliv MXC zvyšovat šanci onemocnění v F3 generaci potkanů podobnému syndromu polycystických ovaríí (Manikkam et al., 2014). Nadále myši vystaveny BPA v perinatálním období, projeví vyšší expresi Meg3, která je důležitá v souvislosti centrální kontroly předčasné puberty (Tao et al., 2015) a zvýšené hladiny BPA jsou spojovány s předčasnou pubertou u žen (Supornsilchai et al., 2016).

## 9 Závěr

Publikované studie více než naznačují schopnost nějakých chemických látek ovlivňovat endokrinní systém více živočichů prostřednictvím hormonů. Endogenní hormony hrají klíčovou roli v buněčné proliferaci, diferenciaci, vývoji a funkci orgánů. EDs mohou vyvolat onemocnění ve více orgánech, jako například metabolické onemocnění, endokrinní dysfunkce, abnormality reprodukčního traktu nebo rakovinu, ale jsou sledovány i pro schopnost některých EDs inhibovat buněčnou proliferaci rakovinotvorných buněk. Obvyklým cílem EDs je reprodukční soustava, častěji žen. Chemikálie do systému dokáží pronikat více způsoby během celého životního období. I bez přímého vystavení se EDs lze pozorovat nepříznivé účinky těchto látek, například díky epigenetickým efektům. V organismu mohou narušovat reprodukční systém od HHG osy po samotnou steroidogenezí. Jejich široký záběr působení je velice znepokojující zejména pro budoucí generace, za předpokladu stále přibývajících chemikálií a jejich náročného odstranění nejen z životního prostředí. Expozice EDs může vést ke změnám v menstruačním, popřípadě v estrálním cyklu, steroidogenním modifikacím nebo k různým problémům při vývoji oocyty. Mají schopnost zasahovat do meiotického dělení, folikulárního vývoje během jakéhokoli stádia nebo dokonce indukovat folikulární atrézii, která může vést až k infertilitě. Záběr působení EDs je velice široký a ve vlastním zájmu bychom se měli věnovat jejich poznání a omezení nejen pro lidské zdraví.

## 10 Seznam použité literatury

- Ahn, C., Jeung, E.-B., 2023. Endocrine-Disrupting Chemicals and Disease Endpoints. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 5342. <https://doi.org/10.3390/ijms24065342>
- Al-Saleh, I., Coskun, S., El-Doush, I., Billedo, G., Mashhour, A., Jaroudi, K., Al-Shahrani, A., Al-Mayman, H., Mohamed, G., 2009. Outcome of in-vitro fertilization treatment and DDT levels in serum and follicular fluid. *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* 15, BR320-333., PMID: 19865049
- Anh, H.Q., Watanabe, I., Minh, T.B., Takahashi, S., 2021. Unintentionally produced polychlorinated biphenyls in pigments: An updated review on their formation, emission sources, contamination status, and toxic effects. *Sci. Total Environ.* 755, 142504. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142504>
- ATSDR, Toxicological profile for atrazine, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry
- Baumeister, M., Steep, M., Dieckmann, S., Melzer, O., Klöppel, H., Jüriling, H., Bender, L., 2002. Transfer of the fungicide vinclozolin from treated to untreated plants via volatilization. *Chemosphere* 48, 75–82. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00049-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00049-8)
- Bethsass, J., Colangelo, A., 2006. European Union Bans Atrazine, While the United States Negotiates Continued Use. *Int. J. Occup. Environ. Health* 12, 260–267. <https://doi.org/10.1179/oeh.2006.12.3.260>
- Bhardwaj, J.K., Saraf, P., 2020. *N*-acetyl-l-cysteine mediated regulation of DNA fragmentation, an apoptotic event, against methoxychlor toxicity in the granulosa cells of ovarian antral follicles. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 858–860, 503222. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503222>
- Blatt, J., Van Le, L., Weiner, T., Sailer, S., 2003. Ovarian Carcinoma in an Adolescent With Transgenerational Exposure to Diethylstilbestrol. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 25, 635, DOI: [10.1097/00043426-200308000-00009](https://doi.org/10.1097/00043426-200308000-00009)
- Burrows, H., n.d. PATHOLOGICAL CONDITIONS INDUCED BY OESTROGENIC COMPOUNDS IN THE COAGULATING GLAND AND PROSTATE OF THE MOUSE.
- Čajka, T., Hajšlová, J., 2003. Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides in Human Milk from the Locality Prague, Czech Republic: A Comparative Study. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 70, 913–919. <https://doi.org/10.1007/s00128-003-0069-2>
- Caldwell, D.J., Mastrocco, F., Hutchinson, T.H., Länge, R., Heijerick, D., Janssen, C., Anderson, P.D., Sumpter, J.P., 2008. Derivation of an Aquatic Predicted No-Effect Concentration for the Synthetic Hormone, 17 $\alpha$ -Ethinyl Estradiol. *Environ. Sci. Technol.* 42, 7046–7054. <https://doi.org/10.1021/es800633q>
- Chian, R.-C., Nargund, G., Huang, J.Y.J. (Eds.), 2017. Development of In Vitro Maturation for Human Oocytes. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-53454-1>
- Clark, B.J., Wells, J., King, S.R., Stocco, D.M., 1994. The purification, cloning, and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse Leydig tumor cells. Characterization of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR). *J. Biol. Chem.* 269, 28314–28322. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)46930-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)46930-X)
- Collado-Fernandez, E., Picton, H., Dumollard, R., 2012. Metabolism throughout follicle and oocyte development in mammals. *Int. J. Dev. Biol.* 56, 799–808. <https://doi.org/10.1387/ijdb.120140ec>
- Cornwell, T., Cohick, W., Raskin, I., 2004. Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry* 65, 995–1016. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.03.005>
- Couse, J.F., Korach, K.S., 1999. Estrogen Receptor Null Mice: What Have We Learned and Where Will They Lead Us. *Endocr. Rev.* 20, 358–417. <https://doi.org/10.1210/edrv.20.3.0370>
- Cummings, A.M., 1997. Methoxychlor as a Model for Environmental Estrogens. *Crit. Rev. Toxicol.* 27, 367–379. <https://doi.org/10.3109/10408449709089899>
- Darbre, P.D., 2021. Endocrine Disruption and Human Health. Academic Press, ISBN: 9780128234679
- Davis, B.J., Maronpot, R.R., Heindel, J.J., 1994. Di-(2-ethylhexyl) Phthalate Suppresses Estradiol and Ovulation in Cycling Rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 128, 216–223. <https://doi.org/10.1006/taap.1994.1200>
- 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. *Endocr. Rev.* 30, 293–342. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0002>
- Ding, Z.-M., Hua, L.-P., Ahmad, M.J., Safdar, M., Chen, F., Wang, Y.-S., Zhang, S.-X., Miao, Y.-L., Xiong, J.-J.,

Huo, L.-J., 2020. Diethylstilbestrol exposure disrupts mouse oocyte meiotic maturation in vitro through affecting spindle assembly and chromosome alignment. *Chemosphere* 249, 126182. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126182>

Dixon, R.A., 2004. PHYTOESTROGENS. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 225–261. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141729>

Dixon, R.A., Ferreira, D., 2002. Genistein. *Phytochemistry* 60, 205–211. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00116-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00116-4)

Effects of selected endocrine disruptors on meiotic maturation, cumulus expansion, synthesis of hyaluronan and progesterone by porcine oocyte–cumulus complexes - ScienceDirect [WWW Document], n.d. URL [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S088723330800310X?casa\\_token=4jphY4VfyMAAAA:ZZ-mHf3EQGiCJ6PVqRsqqHMmN35eIO276DEMtiTgjjVII5IhDy9V3f7QUfCbcTYFoHFoj3N](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S088723330800310X?casa_token=4jphY4VfyMAAAA:ZZ-mHf3EQGiCJ6PVqRsqqHMmN35eIO276DEMtiTgjjVII5IhDy9V3f7QUfCbcTYFoHFoj3N) (accessed 4.21.24).

Eichenlaub-Ritter, U., Vogt, E., Cukurcam, S., Sun, F., Pacchierotti, F., Parry, J., 2008. Exposure of mouse oocytes to bisphenol A causes meiotic arrest but not aneuploidy. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen., Aneugenic Activity: Its Detection, Assessment and Significance* 651, 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.10.014>

Eladak, S., Grisin, T., Moison, D., Guerquin, M.-J., N’Tumba-Byn, T., Pozzi-Gaudin, S., Benachi, A., Livera, G., Rouiller-Fabre, V., Habert, R., 2015. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertil. Steril.* 103, 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.11.005>

Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens | Nature Reviews Endocrinology [WWW Document], n.d. URL <https://www.nature.com/articles/nrendo.2010.87> (accessed 4.9.24).

Chmelíková E., Sedmíková M., Jeřeta, M., Němeček D., 2018. Endocrine disruptors: General characteristics, chemical nature and mechanisms of action. A review. *Med. J. Cell Biol.* 6, 135–139. <https://doi.org/10.2478/acb-2018-0022>

Fortune, J.E., 2003. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Anim. Reprod. Sci., Ovarian Follicle Development* 78, 135–163. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00088-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00088-5)

Fowler, R.E., Fox, N.L., Edwards, R.G., Steptoe, P.C., 1978. Steroid production from 17 $\alpha$ -hydroxypregnenolone and dehydroepiandrosterone by human granulosa cells in vitro. *Reproduction* 54, 109–117. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0540109>

Glister, C., Groome, N.P., Knight, P.G., 2003. Oocyte-Mediated Suppression of Follicle-Stimulating Hormone- and Insulin-Like Growth Factor-Induced Secretion of Steroids and Inhibin-Related Proteins by Bovine Granulosa Cells In Vitro: Possible Role of Transforming Growth Factor  $\alpha$ 1. *Biol. Reprod.* 68, 758–765. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.008698>

Gore, A.C., 2008. Developmental programming and endocrine disruptor effects on reproductive neuroendocrine systems. *Front. Neuroendocrinol., Special Issue: Epigenetics* 29, 358–374. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2008.02.002>

Gore, A.C., Chappell, V.A., Fenton, S.E., Flaws, J.A., Nadal, A., Prins, G.S., Toppari, J., Zoeller, R.T., 2015. EDC-2: The Endocrine Society’s Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocr. Rev.* 36, E1–E150. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1010>

Graceli et al., J.B., 2020. The impact of endocrine-disrupting chemical exposure in the mammalian hypothalamic-pituitary axis - ScienceDirect <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303720720302999>

Gregoraszczyk, E.L., Rak, A., Kawalec, K., Ropstad, E., 2008. Steroid secretion following exposure of ovarian follicular cells to single congeners and defined mixture of polybrominated dibenzoethers (PBDEs), *p,p'*-DDT and its metabolite *p,p'*-DDE. *Toxicol. Lett.* 178, 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.02.011>

Hannon, P.R., Brannick, K.E., Wang, W., Flaws, J.A., 2015. Mono(2-Ethylhexyl) Phthalate Accelerates Early Folliculogenesis and Inhibits Steroidogenesis in Cultured Mouse Whole Ovaries and Antral Follicles1. *Biol. Reprod.* 92, 120, 1–11. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.129148>

Hanukoglu, I., 1992. Steroidogenic enzymes: Structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 43, 779–804. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(92\)90307-5](https://doi.org/10.1016/0960-0760(92)90307-5)

Harnett, K.G., Chin, A., Schuh, S.M., 2021. BPA and BPA alternatives BPS, BPAF, and TMBPF, induce cytotoxicity and apoptosis in rat and human stem cells. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 216, 112210. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112210>

Heikinheimo, O., Gibbons, W., 1998. The molecular mechanisms of oocyte maturation and early embryonic development are unveiling new insights into reproductive medicine. *Mol. Hum. Reprod.* 4, 745–56. <https://doi.org/10.1093/molehr/4.8.745>

Herbst Arthur L., Ulfelder Howard, Poskanzer David C., 1971. Adenocarcinoma of the Vagina. *N. Engl. J. Med.*

284, 878–881. <https://doi.org/10.1056/NEJM197104222841604>

Hojo, H., Aoyama, H., Takahashi, K.L., Shimizu, N., Araki, M., Takizawa, Y., Sakasai, K., Kuwahara, M., Saka, M., Teramoto, S., 2006. Two-generation reproduction toxicity study in rats with 1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane (p,p'-DDT). *Congenit. Anom.* 46, 105–114. <https://doi.org/10.1111/j.1741-4520.2006.00110.x>

Hu, M.-C., Hsu, H.-J., Guo, I.-C., Chung, B., 2004. Function of *Cyp11a1* in animal models. *Mol. Cell. Endocrinol., Proceedings of the Serono Foundation for the Advancement of Medical Science Workshop on Molecular Steroidogenesis* 215, 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.11.024>

Hunt, P.A., Koehler, K.E., Susiarjo, M., Hodges, C.A., Ilagan, A., Voigt, R.C., Thomas, S., Thomas, B.F., Hassold, T.J., 2003. Bisphenol A Exposure Causes Meiotic Aneuploidy in the Female Mouse. *Curr. Biol.* 13, 546–553. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(03\)00189-1](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(03)00189-1)

Kang, Y., Zhang, R., Yu, K., Han, M., Pei, J., Chen, Z., Wang, Y., 2022. Organochlorine pesticides (OCPs) in corals and plankton from a coastal coral reef ecosystem, south China sea. *Environ. Res.* 214, 114060. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114060>

Kiyama, R., Wada-Kiyama, Y., 2015. Estrogenic endocrine disruptors: Molecular mechanisms of action. *Environ. Int.* 83, 11–40. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.05.012>

Kleine, B., Rossmannith, W.G., 2016. *Hormones and the Endocrine System: Textbook of Endocrinology*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-15060-4>

Knapczyk-Stwora, K., Nynca, A., Swigonska, S., Paukzsto, L., Jastrzebski, J.P., Witek, P., Kozirowski, M., Slomczynska, M., 2022. Effects of neonatal methoxychlor exposure on the ovarian transcriptome in piglets. *Anim. Reprod. Sci.* 238, 106956. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.106956>

Lee, S.G., Kim, J.Y., Chung, J.-Y., Kim, Y.-J., Park, J.-E., Oh, S., Yoon, Y.-D., Yoo, K.S., Yoo, Y.H., Kim, J.-M., 2013. Bisphenol A Exposure during Adulthood Causes Augmentation of Follicular Atresia and Luteal Regression by Decreasing 17 $\beta$ -Estradiol Synthesis via Downregulation of Aromatase in Rat Ovary. *Environ. Health Perspect.* 121, 663–669. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205823>

Blount B., Silva M., Caudill L., Needham L., Pirkle J., Sampson E., Lucier G., Jacson R., Brock J., 2000 Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population, PMID: 11049818 <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/epdf/10.1289/ehp.00108979> (accessed 3.21.24).

Listing of POPs in the Stockholm Convention, <https://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509/Default.aspx> <https://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/AllPOPs/tabid/2509/Default.aspx> (accessed 3.18.24).

Manikkam, M., Haque, M.M., Guerrero-Bosagna, C., Nilsson, E.E., Skinner, M.K., 2014. Pesticide Methoxychlor Promotes the Epigenetic Transgenerational Inheritance of Adult-Onset Disease through the Female Germline. *PLOS ONE* 9, e102091. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102091>

Marsh, J.M., 1976. The Role of Cyclic AMP in Gonadal Steroidogenesis. *Biol. Reprod.* 14, 30–53. <https://doi.org/10.1095/biolreprod14.1.30>

Meyer, N., Santamaria, C.G., Müller, J.E., Schumacher, A., Rodriguez, H.A., Zenclussen, A.C., 2019. Exposure to 17 $\alpha$ -ethinyl estradiol during early pregnancy affects fetal growth and survival in mice. *Environ. Pollut.* 251, 493–501. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.144>

Mlynarčíková A., Nagyová E., Ficková M., Scsuková S., Effect of selected endocrine disruptors on meiotic maturation, cumulus expansion, synthesis of hyaluronan and progesterone by porcine oocyte-cumulus complex, <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2008.12.017>

Motta, P.M., Nottola, S.A., Makabe, S., Heyn, R., 2000. Mitochondrial morphology in human fetal and adult female germ cells. *Hum. Reprod.* 15, 129–147. [https://doi.org/10.1093/humrep/15.suppl\\_2.129](https://doi.org/10.1093/humrep/15.suppl_2.129)

Mueller, J.K., Heger, S., 2014. Endocrine disrupting chemicals affect the Gonadotropin releasing hormone neuronal network. *Reprod. Toxicol., Environmental factors in dysregulation of puberty timing and progression* 44, 73–84. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.10.011>

Nestler, J., 1997. Role of Hyperinsulinemia in the Pathogenesis of the Polycystic Ovary Syndrome, and Its Clinical Implications. *Semin. Reprod. Med.* 15, 111–122. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1016294>

Niswender, G.D., Juengel, J.L., Silva, P.J., Rollyson, M.K., McIntush, E.W., 2000. Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiol. Rev.* 80, 1–29. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.1.1>

OSPAR Commission | Protecting and conserving the North-East Atlantic and its resources [WWW Document], n.d. URL <https://www.ospar.org/> (accessed 4.15.24).

Palma, G.A., Argañaraz, M.E., Barrera, A.D., Rodler, D., Mutto, A.Á., Sinowatz, F., 2012. Biology and Biotechnology of Follicle Development. *Sci. World J.* 2012, e938138. <https://doi.org/10.1100/2012/938138>

Patel, S., Zhou, C., Rattan, S., Flaws, J.A., 2015. Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals on the Ovary. *Biol.*



Reprod. 93, 20, 1–9. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.130336>

Paterni, I., Granchi, C., Katzenellenbogen, J.A., Minutolo, F., 2014. Estrogen Receptors Alpha (ER $\alpha$ ) and Beta (ER $\beta$ ): Subtype-Selective Ligands and Clinical Potential. *Steroids* 0, 13–29. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.06.012>

Pennel P., Pregnancy, Epilepsy, and Womens Issues, 2013 DOI: [10.1212/01.CON.0000431383.14061.e6](https://doi.org/10.1212/01.CON.0000431383.14061.e6)

Peretz, J., Craig, Z.R., Flaws, J.A., 2012. Bisphenol A Inhibits Follicle Growth and Induces Atresia in Cultured Mouse Antral Follicles Independently of the Genomic Estrogenic Pathway<sup>1</sup>. *Biol. Reprod.* 87, 63, 1–11. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.101899>

Peretz, J., Gupta, R.K., Singh, J., Hernández-Ochoa, I., Flaws, J.A., 2011. Bisphenol A Impairs Follicle Growth, Inhibits Steroidogenesis, and Downregulates Rate-Limiting Enzymes in the Estradiol Biosynthesis Pathway. *Toxicol. Sci.* 119, 209–217. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq319>

Picton, H.M., 2001. Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology* 55, 1193–1210. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00478-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00478-2)

Pocar, P., Brevini, T., Fischer, B., Gandolfi, F., 2003. The impact of endocrine disruptors on oocyte competence. *Reprod. Camb. Engl.* 125, 313–25. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1250313>

Przybylińska, P.A., Wyszowski, M., 2016. Environmental contamination with phthalates and its impact on living organisms. *Ecol. Chem. Eng. S* 23, 347–356. <https://doi.org/10.1515/eces-2016-0024>

Rahman, F., Langford, K.H., Scrimshaw, M.D., Lester, J.N., 2001. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Sci. Total Environ.* 275, 1–17. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00852-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00852-X)

Rattan, S., Flaws, J.A., 2019. The epigenetic impacts of endocrine disruptors on female reproduction across generations†. *Biol. Reprod.* 101, 635–644. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioz081>

Reynolds, L., Redmer, D., 2019. Growth and development of the corpus luteum. *Biosci. Proc.* <https://doi.org/10.1530/biosciproc.4.014>

Richter, C.A., Birnbaum, L.S., Farabollini, F., Newbold, R.R., Rubin, B.S., Talsness, C.E., Vandenberg, J.G., Walser-Kuntz, D.R., vom Saal, F.S., 2007. *In vivo* effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reprod. Toxicol.* 24, 199–224. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.06.004>

Rohr, J.R., 2021. The Atrazine Saga and its Importance to the Future of Toxicology, Science, and Environmental and Human Health. *Environ. Toxicol. Chem.* 40, 1544–1558. <https://doi.org/10.1002/etc.5037>

Rubin et al., 2001. Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels. [WWW Document]. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109675>

Safe, S., Hutzinger, O., 1984. Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Polybrominated Biphenyls (PBBs): Biochemistry, Toxicology, and Mechanism of Action. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* <https://doi.org/10.3109/10408448409023762>

Schrager S., Potter B., 2004. Diethylstilbestrol Exposure, University of Wisconsin Medical School, Madison, Wisconsin, <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2004/0515/p2395.html>

Shanle, E.K., Xu, W., 2011. Endocrine Disrupting Chemicals Targeting Estrogen Receptor Signaling: Identification and Mechanisms of Action. *Chem. Res. Toxicol.* 24, 6–19. <https://doi.org/10.1021/tx100231n>

Simoni, M., Huhtaniemi, I.T. (Eds.), 2017. *Endocrinology of the Testis and Male Reproduction*, Endocrinology. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-44441-3>

Sirotkin, A.V., Harrath, A.H., 2014. Phytoestrogens and their effects. *Eur. J. Pharmacol.* 741, 230–236. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.057>

Skinner, M.K., 2008. What is an epigenetic transgenerational phenotype?: F3 or F2. *Reprod. Toxicol.* 25, 2–6. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.09.001>

Sonnenschein, C., Soto, A.M., 1998. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists<sup>1</sup>. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 65, 143–150. [https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(98\)00027-2](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(98)00027-2)

Stocco, D.M., Clark, B.J., 1996. Regulation of the Acute Production of Steroids in Steroidogenic Cells 17.

Supornsilchai, V., Jantararat, C., Nosoognoen, W., Pornkunwilai, S., Wacharasindhu, S., Soder, O., 2016. Increased levels of bisphenol A (BPA) in Thai girls with precocious puberty. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 29, 1233–1239. <https://doi.org/10.1515/jpem-2015-0326>

Swain, J.E., Pool, T.B., 2008. ART failure: oocyte contributions to unsuccessful fertilization. *Hum. Reprod. Update* 14, 431–446. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn025>

Tao, Y.-H., Sharif, N., Zeng, B.-H., Cai, Y.-Y., Guo, Y.-X., 2015. Lateral ventricle injection of orexin-A ameliorates central precocious puberty in rat via inhibiting the expression of MEG3. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 8, 12564–12570.

Thompson, I.R., Kaiser, U.B., 2014. GnRH pulse frequency-dependent differential regulation of LH and FSH gene

expression. *Mol. Cell. Endocrinol., Molecular and Cellular Biology of Gonadotropes: An integrated view with new horizons* 385, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.09.012>

Toktay, E., Selli, J., Gurbuz, M.A., Tastan, T.B., Ugan, R.A., Un, H., Halici, Z., 2020. Effects of soy isoflavonoids (genistein and daidzein) on endometrial receptivity. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 23, 1603–1609. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.48294.11089>

Urseler, N., Bachetti, R., Biolé, F., Morgante, V., Morgante, C., 2022. Atrazine pollution in groundwater and raw bovine milk: Water quality, bioaccumulation and human risk assessment. *Sci. Total Environ.* 852, 158498. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158498>

US EPA, O., 2015. Overview of Endocrine Disruption [WWW Document]. URL <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/overview-endocrine-disruption> (accessed 6.2.23).

US EPA Search [WWW Document], n.d. URL [https://search.epa.gov/epasearch/?querytext=vinklozolin&areaname=&areacontacts=&areasearchurl=&typeofsearch=epa&result\\_template=#/](https://search.epa.gov/epasearch/?querytext=vinklozolin&areaname=&areacontacts=&areasearchurl=&typeofsearch=epa&result_template=#/) (accessed 6.17.23).

US EPA, EDSTAC Final Report, Executive summary, 1998

US EPA, methoxychlor, Hazard summary, <https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-09/documents/methoxychlor.pdf>

Wang, Y., Qian, H., 2021. Phthalates and Their Impacts on Human Health. *Healthcare* 9, 603. <https://doi.org/10.3390/healthcare9050603>

Wirbisky, S.E., Freeman, J.L., 2015. Atrazine Exposure and Reproductive Dysfunction through the Hypothalamus-Pituitary-Gonadal (HPG) Axis. *Toxics* 3, 414–450. <https://doi.org/10.3390/toxics3040414>

Wu, C.-t., Morris, J.R., 2001. Genes, Genetics, and Epigenetics: A Correspondence. *Science* 293, 1103–1105. <https://doi.org/10.1126/science.293.5532.1103>

Wu, K., Li, Y., Pan, P., Li, Z., Yu, Y., Huang, J., Ma, F., Tian, L., Fang, Y., Wang, Y., Lin, H., Ge, R.-S., 2020. Gestational vinclozolin exposure suppresses fetal testis development in rats. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 203, 111053. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111053>

Wuttke, W., Jarry, H., Seidlová-Wuttke, D., n.d. Definition, classification and mechanism of action of endocrine disrupting chemicals., DOI: [10.1007/BF03401276](https://doi.org/10.1007/BF03401276)

Xing, J., Zhang, S., Zhang, M., Hou, J., 2022. A critical review of presence, removal and potential impacts of endocrine disruptors bisphenol A. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 254, 109275. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109275>

Xu, C., Chen, J.-A., Qiu, Z., Zhao, Q., Luo, J., Yang, L., Zeng, H., Huang, Y., Zhang, L., Cao, J., Shu, W., 2010. Ovotoxicity and PPAR-mediated aromatase downregulation in female Sprague–Dawley rats following combined oral exposure to benzo[a]pyrene and di-(2-ethylhexyl) phthalate. *Toxicol. Lett.* 199, 323–332. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.09.015>

Yang, Y., Yang, L., Chen, H., Tan, H., Yang, J., Sun, F., Sun, J., Gong, X., Tao, L., Huang, Y., 2022. Low-level alternative halogenated flame retardants (AHFRs) in indoor dust from Adelaide, South Australia decades since national legislative control on polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). *Sci. Total Environ.* 826, 154123. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154123>

Yilmaz, B., Terekeci, H., Sandal, S., Kelestimur, F., 2020. Endocrine disrupting chemicals: exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 21, 127–147. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09521-z>

Young, J.M., McNeilly, A.S., 2010. Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction* 140, 489–504. <https://doi.org/10.1530/REP-10-0094>

Yu, H., Yang, J., Zhang, Y., Fu, H., Yan, Z., Zhu, Y., 2021. Vinclozolin-induced mouse penile malformation and “small testis” via miR132, miR195a together with the Hippo signaling pathway. *Toxicology* 460, 152842. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152842>

Zalko, D., Jacques, C., Duplan, H., Bruel, S., Perdu, E., 2011. Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A. *Chemosphere* 82, 424–430. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.058>

Zama, A.M., Uzumcu, M., 2010. Epigenetic effects of endocrine-disrupting chemicals on female reproduction: An ovarian perspective. *Front. Neuroendocrinol., Neuroendocrine Disruptors* 31, 420–439. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2010.06.003>

Zama, A.M., Uzumcu, M., 2009. Fetal and Neonatal Exposure to the Endocrine Disruptor Methoxychlor Causes Epigenetic Alterations in Adult Ovarian Genes. *Endocrinology* 150, 4681–4691. <https://doi.org/10.1210/en.2009-0499>

- Zhang, H.-Q., Zhang, X.-F., Zhang, L.-J., Chao, H.-H., Pan, B., Feng, Y.-M., Li, L., Sun, X.-F., Shen, W., 2012. Fetal exposure to bisphenol A affects the primordial follicle formation by inhibiting the meiotic progression of oocytes. *Mol. Biol. Rep.* 39, 5651–5657. <https://doi.org/10.1007/s11033-011-1372-3>
- Zhang, T., Zhou, X., Xu, A., Tian, Y., Wang, Y., Zhang, Y., Gu, Q., Wang, S., Wang, Z., 2020. Toxicity of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) on rodent male reproductive system: A systematic review and meta-analysis of randomized control studies. *Sci. Total Environ.* 720, 137419. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137419>
- Zhang, Y.-J., Guo, J.-L., Xue, J., Bai, C.-L., Guo, Y., 2021. Phthalate metabolites: Characterization, toxicities, global distribution, and exposure assessment. *Environ. Pollut.* 291, 118106. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118106>
- Zhou, Y., Liu, X., 2020. The role of estrogen receptor beta in breast cancer. *Biomark. Res.* 8, 39. <https://doi.org/10.1186/s40364-020-00223-2>