

# Endokrini disruptori i sindrom policističnih jajnika

---

Vuraić, Dora

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:821569>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-19**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju  
Sveučilišni prijediplomski studij kemija

Dora Vuraić

**ENDOKRINI DISRUPTORI I SINDROM  
POLICISTIČNIH JAJNIKA**

Završni rad

Mentor: doc. dr. sc. Ana Amić

Osijek, 2024.

Naziv sveučilišta: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju

Naziv studija: Sveučilišni prijediplomski studij Kemija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Znanstvena grana: Biokemija

## ENDOKRINI DISRUPTORI I SINDROM POLICISTIČNIH JAJNIKA DORA VURAIĆ

**Rad je izrađen na:** Sveučilištu u Osijeku – Odjel za kemiju

**Mentor:** Doc. dr. sc. Ana Amić

**Sažetak:** Cilj ovoga rada je istražiti endokrine disruptore, njihovu apsorpciju u organizam i štetne učinke na zdravlje. U tu svrhu, napravljen je literaturni pregled dugogodišnjih istraživanja fokusiranih na endokrine disruptore kojima su ljudi najviše izloženi (bisfenol A, parabeni, triklosan, ftalati i fitoestrogeni). Fokus je stavljen na istraživanja koja su se bavila utjecajem pojedinih endokrinih disruptora na reproduktivni sustav i pokušajem smanjenja nastalih šteta. Naime, endokrini disruptori, kojima su ljudi svakodnevno izloženi i ne mogu se potpuno izbjeći, djeluju već u vrlo malim dozama, a apsorpcijom u organizam ostavljaju brojne posljedice poput hormonalnih poremećaja, pretilosti, raznih poremećaja reproduktivnog sustava (funkcioniranje jajnika, folikulogeneza) itd. U ovom radu, poseban naglasak stavljen je na utjecaj disruptora na nastanak sindroma policističnih jajnika. Iako mehanizam nastanka sindroma nije u potpunosti razjašnjen, utvrđeno je da izloženost endokrinim disruptorima utječe na nastanak inzulinske rezistencije (koja je usko povezana s ovim sindromom), na nakupljanje kolesterola (što dovodi do pretilosti i može sudjelovati u nastanku sindroma), na ekspresiju gena, odvijanje određenih staničnih procesa i sl. Konkretna veza disruptora i ovog sindroma i dalje se detaljno istražuje kako bi se dobila što jasnija slika koja bi mogla pomoći u liječenju sindroma, a moguće i u sprečavanju njegovog nastanka.

**Ključne riječi:** *endokrini disruptori, PCOS, bisfenol A, inzulinska rezistencija, pretilost.*

**Jezik izvornika:** hrvatski jezik

**Završni rad obuhvaća:** 45 stranice, 9 slika, 3 tablice, 100 literaturnih navoda i 1 prilog.

**Rad prihvaćen:** 2. 9. 2024.

**Stručno povjerenstvo za ocjenu rada:**

1. prof. dr. sc. Igor Đerđ, predsjednik
2. doc. dr. sc. Ana Amić, mentorica i članica
3. doc. dr. sc. Anamarija Stanković, članica
4. izv. prof. dr. sc. Tomislav Balić, zamjena člana

**Rad je pohranjen:** Knjižnica Odjela za kemiju, Kuhačeva 20, 31000 Osijek

Repozitorij Odjela za kemiju, Osijek

---

University Name: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek – Department of Chemistry**

Name of study programme: **University Undergraduate study programme in Chemistry**

**Scientific area:** Natural sciences

**Scientific field:** Chemistry

**Scientific branch:** Biochemistry

## ENDOCRINE DISRUPTORS AND POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

DORA VURAIĆ

**The paper was created on:** Department of Chemistry

**Supervisor:** Assist. Prof. Ana Amić, PhD

**Abstract:** The aim of this paper is to explore endocrine disruptors, their absorption into the body, and their harmful effects on the health. To this end, a literature review was conducted, focusing on long-term studies of endocrine disruptors to which humans are most exposed (bisphenol A, parabens, triclosan, phthalates, and phytoestrogens). The focus was on studies examining the impact of specific endocrine disruptors on the reproductive system and attempts to mitigate the damage caused. Namely, endocrine disruptors, to which people are exposed daily and cannot completely avoid, have effects even at very low doses, and their absorption into the body leads to numerous consequences, such as hormonal imbalances, obesity, various reproductive system disorders (ovarian function, folliculogenesis), and more. This paper places special emphasis on the impact of disruptors on the development of polycystic ovary syndrome. Although the mechanism of this syndrome is not fully elucidated, it has been established that exposure to endocrine disruptors influences the development of insulin resistance (closely linked to this syndrome), cholesterol accumulation (which leads to obesity and may contribute to the syndrome), gene expression, cellular processes, etc. The connection between disruptors and this syndrome is under research in order to obtain a clearer understanding that could assist in treating of the syndrome, and possibly in preventing its occurrence.

**Keywords:** *endocrine disruptors, PCOS, bisphenol A, insulin resistance, obesity.*

**Original language:** Croatian language

**Thesis includes:** 45 pages, 9 figures, 3 tables, 100 references and 1 attachment.

**Thesis accepted:** 2. 9. 2024.

**Reviewers:**

1. Full Prof. Igor Đerđ, PhD, chair
2. Assist. Prof. Ana Amić, PhD, supervisor and member
3. Assist. Prof. Anamarija Stanković, PhD, member
4. Assoc. Prof. Tomislav Balić, PhD, substitute member

**Thesis deposited in:** Library of the Department of Chemistry, Ulica Franje Kuhača 20, Osijek,

Repository of the Department of Chemistry, Osijek

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. LITERATURNI PREGLED .....	2
2.1. ENDOKRINI DISRUPTORI .....	2
2.1.1. Bisfenol A .....	6
2.1.2. Parabeni .....	11
2.1.3. Triklosan .....	16
2.1.4. Ftalati .....	20
2.2. SINDROM POLICISTIČNIH JAJNIKA .....	25
2.2.1. Etiologija bolesti .....	26
2.2.2. Simptomi i liječenje sindroma policističnih jajnika .....	27
2.3. POVEZANOST ENDOKRINIH DISRUPTORA I SINDROMA POLICISTIČNIH JAJNIKA .....	28
2.3.1. Utjecaj bisfenola A na nastanak sindroma policističnih jajnika .....	28
2.3.2. Utjecaj ftalata, parabena i triklosana na nastanak sindroma policističnih jajnika .....	32
2.3.3. Utjecaj fitoestrogena na nastanak sindroma policističnih jajnika .....	33
3. ZAKLJUČAK .....	35
4. POPIS LITERATURE .....	36
5. PRILOG .....	45
5.1. Popis kratica .....	45

## 1. UVOD

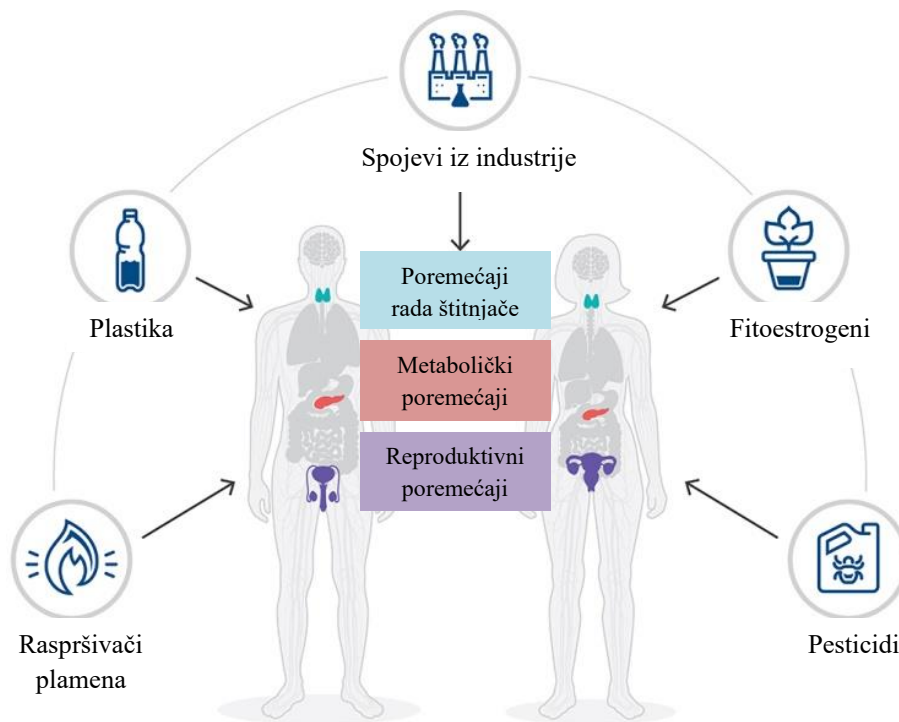
Endokrini disruptori su prirodni i sintetski spojevi kojima su ljudi svakodnevno izloženi i nemoguće ih je potpuno zaobići. Nalaze se u velikoj količini u okolišu te u brojnim proizvodima koji se svakodnevno konzumiraju ili upotrebljavaju, kao na primjer: kozmetički proizvodi, ambalaža za hranu i piće, pesticidi, boje, deterdženti, igračke itd. Djeluju već u vrlo malim dozama, a u organizam ulaze vrlo lako oralnim, dišnim ili dermalnim putem [1]. Nalaze se u brojnim proizvodima koji se koriste na dnevnoj bazi i mogu ostaviti ozbiljnije posljedice na zdravlje. Ovi spojevi imaju posebno izražen utjecaj na endokrini sustav, poput pojave disbalansa hormona, inzulinske rezistencije i sindroma policističnih jajnika. Međutim, posljednjih godina sve se više povećava broj problema povezanih sa ženskim reproduktivnim sustavom i neplodnošću, koji su također povezani s endokrinim disruptorima. Jedan od sve većih problema, čiji se simptomi manifestiraju ulaskom u pubertet, je sindrom policističnih jajnika. Etiologija ove bolesti još uvijek nije posve razjašnjena i potrebna su brojna dodatna medicinska istraživanja kako bi se moglo sa sigurnošću odrediti uzrok nastanka ovog sindroma, ali sve je jasnije da okolišni čimbenici mogu imati bitnu ulogu u razvoju ovog poremećaja. Endokrini disruptori sve su zanimljiviji u istraživanjima etiologije ovog poremećaja, posebno kada se uzme u obzir izloženost žena kozmetičkim proizvodima koji ih često sadrže. Vrlo velika izloženost dovodi do štetnih učinaka koje mogu ostaviti na ženski reproduktivni sustav, a povezani su s hormonalnim i metaboličkim abnormalnostima [2].

Ovaj rad ima nekoliko ciljeva: a) proučiti izvore i ulaz endokrinih disruptora u organizam, b) proučiti učinke i posljedice koje ostavljaju na zdravlje te c) ispitati njihov utjecaj na nastanak sindroma policističnih jajnika. Istraživanja koja se navode u radu, a bazirana su na djelovanju bisfenola A, parabena, triklosana, ftalata i fitoestrogena, uglavnom su najviše fokusirana na koncentraciju endokrinih disruptora u urinu, krvnom serumu ili pak majčinom mlijeku. Rezultati pokazuju da endokrini disruptori mogu djelovati na više načina. Mogu se vezati na nuklearne hormonske receptore te tako prouzročiti agonističke i antagonističke učinke, mogu djelovati na oksidacijski stres, genetsku predispoziciju (osjetljivost) i hormone te na taj način uzrokovati morfološke i funkcionalne promjene u ženskom reproduktivnom sustavu [2].

## 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Endokrini disruptori

Posljednjih stoljeća, zbog povećane industrializacije, ljudi su sve više izloženi raznim tvarima (kemijskim spojevima) koje mogu imati negativan utjecaj na organizam i zdravlje. Između ostalog, ovi spojevi mogu utjecati na endokrini sustav, a zajedničkim imenom nazivaju se endokrini disruptori, EDC (engl. *Endocrine disrupting chemicals*). Postoji više definicija koje opisuju endokrine disruptore, a prema definiciji Međunarodnog programa o kemijskoj sigurnosti (engl. *International Programme on Chemical Safety*) Svjetske zdravstvene organizacije opisani su kao egzogene tvari ili smjese koje mijenjaju funkcije endokrinog sustava i posljedično tome uzrokuju štetne učinke na zdravlje [2]. Do danas je sintetizirano oko 85 000 spojeva, od kojih bi oko 1 000 ili više moglo biti endokrini disruptor [1], primjerice fitoestrogeni spojevi (parabeni, triklosan), pesticidi, bisfenol A. Svi ovi spojevi djeluju na ljude, ali i na životinje, te postoji mogućnost da djeluju i na fetus [3]. Osim sintetskih, postoje i prirodni endokrini disruptori (primjerice fitoestrogeni, Slika 1.).



**Slika 1.** *Mogući izvori endokrinih disruptora (preuzeto i prilagođeno iz [4])*

Kao što je prethodno napisano, endokrini disruptori u organizam najčešće ulaze oralnom primjenom ili dermalnim kontaktom [2], a u organizmu štetno djeluju na endokrini sustav i ostavljaju brojne ozbiljne posljedice na ljudsko zdravlje. Glavna zadaća endokrinog sustava tj. endokrinih žlijezda je proizvodnja hormona koji djeluju kao signalne molekule nakon otpuštanja u krvožilni sustav. Hormoni djeluju u iznimno malim količinama, ali su vrlo važni za normalan rad cjelokupnog organizma, stoga najmanji poremećaji hormona mogu naštetiti cijelom organizmu. Endokrini disruptori imaju mnoga zajednička svojstva s hormonima (Tablica 1.) zbog kojih mogu vrlo lako naštetiti endokrinom sustavu [5].

**Tablica 1.** Usporedba djelovanja hormona i endokrinih disruptora [5].

<b>HORMONI</b>	<b>ENDOKRINI DISRUPTORI</b>
<b>Djeluju preko receptora</b>	Neki djeluju preko hormonskih receptora
<b>Djeluju u malim dozama</b>	Neki djeluju u malim dozama
<b>Mogu pokazivati neujednačen učinak ovisno o dozi</b>	Mogu pokazivati neujednačen učinak ovisno o dozi
<b>Djelovanje unutar određenog vremenskog razdoblja</b>	Djelovanje unutar određenog vremenskog razdoblja
<b>Vežu se slično sa svim podtipovima receptora</b>	Nije definirano
<b>Učinak je ovisan o dozi</b>	Učinak je ovisan o dozi
<b>Ishodi se razlikuju po osjetljivosti</b>	Ishodi se razlikuju po osjetljivosti

Endokrini disruptori počinju djelovati tako što se vežu na nuklearne ili androgene hormonske receptore kao što su estrogenski receptori, ER (engl. *estrogen receptors*), androgenski receptori, AR (engl. *androgen receptors*) i progesteronski receptori, PR (engl. *progesterone receptors*) ili pak vezanjem za membranske proteine. Vezanje endokrinih disruptora na proteine i hormonske receptore dovodi do morfoloških i funkcionalnih promjena u ženskom reproduktivnom sustavu koje mogu posljedično rezultirati neplodnošću,



endometriozom, neredovitim menstrualnim ciklusom, miomom maternice, preuranjenim pubertetom, ginekološkim karcinomom ili sindromom policističnih jajnika [2].

Nakon apsorpcije, endokrini disruptor može djelovati na više načina (Slika 2.), pa tako može povećati ili smanjiti normalnu razinu hormona, može oponašati hormone ili pak može promijeniti proizvodnju hormona [1]. Svaki hormon ima svoj komplementarni receptor koji mora biti prisutan kako bi tkivo ili organ mogli odgovoriti na prisutnost hormona [6]. Hormoni imaju sposobnost aktivirati receptor, što ovisi o nekoliko čimbenika: količini sintetiziranog hormona, količini hormona koja dopijeva u ciljni organ te načinu na koji hormon aktivira receptor. Sve ove čimbenike može poremetiti prisutnost endokrinih disruptora. Endokrini disruptori često oponašaju ili blokiraju hormone i tako narušavaju pravilno funkcioniranje endokrinog sustava. Ukoliko endokrini disruptor oponaša hormon, receptor tog hormona može se neprikladno aktivirati, čime se pokreću procesi koje inače aktivira samo hormon. Ukoliko se disruptor veže kao blokator, ne dolazi do aktivacije receptora iako je prisutan i hormon [4].



*Slika 2. Prikaz djelovanja endokrinih disruptora nakon što se apsorbiraju u tijelu*  
(preuzeto i prilagođeno iz [1])

Endokrini disruptori dijele se na pesticide, sintetske spojeve i prirodne endokrine disruptore. Najpoznatiji predstavnici pesticida su dikloro-difenil-trikloretan, DDT (engl. *dichloro-diphenyl-trichloroethane*) i klorpirifos. DDT jedan je od prvih otkrivenih endokrinih disruptora, a zbog ometanja funkcioniranja spolnih hormona povezan je s mnoštvom reproduktivnih bolesti. Klorpirifos s druge strane najviše djeluje na mozak ometajući glavne neurološke funkcije. Od industrijskih spojeva najrašireniji su ftalati, a od onih koji se nalaze u hrani najviše je istraživani bisfenol A [4].

Postoje i prirodni endokrini disruptori, poput fitoestrogena. To su nesteroidni spojevi biljnog podrijetla koji mogu oponašati estrogene hormone ili djelovati zajedno s njima.

Strukturno su slični 17- $\beta$ -estradiolu, koji je najzastupljeniji i primarni estrogen kod žena [7]. Dijele se u šest glavnih klasa: flavonoidi, pterokarpani, enterolignani, kumestani, mikotoksini i stilbeni [7]. Djelovanje fitoestrogena u organizmu počinje vezanjem na estrogenske receptore nakon čega mogu ometati procese u kojima sudjeluje estrogen, mogu utjecati na transkripciju ili djelovati putem niza drugih mehanizama. Smatra se da se većina tih mehanizama odigrava na vanjskoj strani stanične membrane, što sugerira da potencijalni endokrini disruptor ne mora nužno ući u stanicu kako bi postao aktivan. Drugi mehanizam djelovanja je sposobnost da ometa rad enzima potrebnih za biosintezu steroida te njihovu razgradnju, tako npr. fitoestrogeni mogu inhibirati enzim 11 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenazu tipa 1 koji sudjeluje u sintezi bioaktivnih glukokortikoida iz njihovih neaktivnih preteča [7].

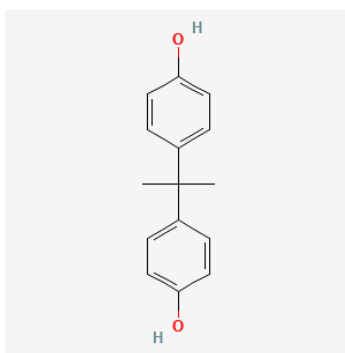
Najbogatiji izvor biljnih estrogena je soja koja je posljednjih 50 godina postala vrlo popularna zamjena za mlijeko i meso. Soja i sastav soje predmet su brojnih istraživanja. Na primjer, Wang i Murphy (1994) ispitivali su sastav 12 izoflavona u 8 američkih i 3 japanske sorte soje te utjecaj sorte i okolišnih čimbenika (lokacija, godina) na sastav. Analiza je provedena pomoću rezervno-fazne tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti s C18 kolonom (engl. *C18 reversed-phase high-performance liquid chromatography*). Varijacije izoflavona kod sorte Vinton 81 iz razdoblja 1989.-1991. Kretala se od 1176 do 3309 mg/g te su autori došli do zaključka da su na ovu sortu veći utjecaj imale godine usjeva nego sama lokacija. U ostalim američkim sortama količine izoflavona su se kretale od 2053 do 4216 mg/g, dok se količina izoflavona u japanskim sortama kretala od 1261 mg/g do 1417 mg/g. U usporedbi s američkim vrstama, japanske su imale veći sadržaj 6'-*O*-molonilglicitina [8].

Fitoestrogeni utječu na plodnost i reprodukcijski sustav. Meena i sur. (2017) ispitali su prenatalni utjecaj izoflavona genisteina na ženke štakora, njihovu trudnoću i reproduktivne funkcije muškog potomstva. Ženkama štakora davali su injekcije genisteina, u dozama od 2, 20 i 100 mg/kg tijekom 7 dana. Muški mladunci koji su bili izloženi genisteinu i oni iz kontrolne skupine ostavljeni su 100 dana da se razviju. Nakon 90 dana i tretirani i netretirani mužjaci bili su udruženi s netretiranim ženkama iste starosti kako bi se vidio utjecaj genisteina na plodnost. Utvrđeno je značajno smanjenje indeksa reproduktivnih organa odraslih mužjaka štakora koji su bili izloženi genisteinu tijekom embrionalnog razvoja te je uočena smanjena dnevna proizvodnja spermija [9]. S druge strane, Russo i sur. (2018) utvrdili su povezanost konzumacije fitoestrogena s povećanom (ili smanjenom) incidencijom raka prostate. Putem odgovarajućih upitnika (sadržavali su opsežne informacije poput zdravstvenog stanja, socio-ekonomskog statusa, prehranjenih navika i sl.) sastavljena je istraživana skupina od 118 pacijenata potvrđenim s rakom prostate i kontrolan skupina (222 zdrava pojedinca). Ispitanici

su potom popunjavali detaljne upitnike kojima se procjenivala njihova prehrana (upitnici su sadržavali pitanja o 110 prehrambenih artikala i pića te o njihovoj zastupljenosti u prehrani ispitanika u zadnjih 6 mjeseci). Rezultati su ukazali na značajnu korelaciju fitoestrogena i raka prostate. Utvrdili su da su pacijenti s rakom prostate konzumirali znatno veće količine fitoestrogena od kontrolne skupine. Lignani, laricirezinol, matairezinol i sekoizolaricirezinol povezani su s povećanim rizikom od raka prostate, dok su s druge strane izoflavoni (posebno genistein) povezani sa smanjenim rizikom od nastanka raka prostate [10].

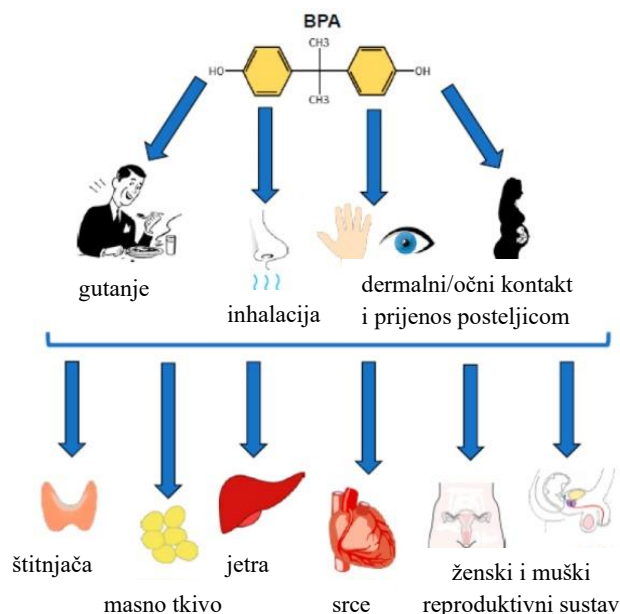
### 2.1.1. Bisfenol A

Bisfenol A, 2,2-bis (4-hidroksifenol) propan ( $C_{15}H_{16}O_2$ ), jedan je od najzastupljenijih sintetskih spojeva na svijetu te je najopsežnije proučavan endokrini disruptor [2]. Sadrži dva fenolna prstena povezana preko ugljikovog atoma koji na sebi ima vezane dvije metilne skupine (Slika 3.). Koristi se u proizvodnji mnogobrojnih polikarbonata plastike i epoksidnih smola koje se koriste kao površinski premazi, premazi CD-a i DVD-a, termalnog papira za račune, vodovodnih cijevi, a bio je i sastavni dio dječjih bočica i boca za vodu iz kojih je kroz godine postupno ukinut [11].



**Slika 3.** Struktura bisfenola A [12]

Ljudi su na brojne načine izloženi bisfenolu A, BPA (engl. *Bisphenol A*), preko prašine (udisanje), dermalnim kontaktom, prijenosom preko majke i fetusa ili direktnom konzumacijom (kontaminirana hrana i pića iz plastičnih ambalaža). BPA može negativno utjecati na više organa i organskih sustava, npr. na štitnjaču, masno tkivo, srce, jetru te na ženski i muški reproduktivni sustav (Slika 4) [13].



**Slika 4.** Prikaz ulaska bisfenola A i organi na koje najviše štetno djeluje  
(preuzeto i prilagođeno iz [13])

U ljudskom organizmu, BPA se najčešće otkriva u tjelesnim tekućinama poput urina, sline, folikularne tekućine, majčinog mlijeka, plodne vode, ali i u placenti i pupčanoj vrpci [2]. Zbog svoje lipofilne prirode, BPA ima sposobnost nakupljanja u različitim tkivima te tako ugrožava njihovu fiziološku funkciju i štetno djeluje na zdravlje. BPA posjeduje antiandrogeno djelovanje zbog kojeg djeluje kao agonist na ER te kao antagonist na AR [13]. BPA ima slaba estrogenska svojstva, a glavni organ koji je odgovoran za metabolizam BPA je jetra [14].

BPA može vezati nuklearne receptore poput ER- $\alpha$  i ER- $\beta$ , GPR30 receptora, AR, receptore hormona štitnjače i glukokortikoidne receptore, što rezultira štetnim učinkom BPA na zdravlje. S obzirom na afinitet vezanja BPA na ER, glavno mjesto za aktivnost BPA u organizmu je jajnik, koji je ujedno glavno mjesto za proizvodnju estrogena. BPA djeluje kao estradiol, glavni ženski spolni hormon, stimulirajući različite stanične odgovore [13].

Delfosse i sur. (2012) ispitivali su mehanizam vezanja BPA za estrogene receptore i njihovu aktivaciju, a utvrdili su da se taj mehanizam razlikuje od mehanizma vezanja 17- $\beta$ -estradiola. BPA se ponaša kao djelomični agonist ER-a tako što aktivira N-terminalnu aktivacijsku funkciju (neovisno o učinku na C-terminalnu aktivacijsku funkciju). Ovisno o ispitivanom MPA, uočen je slabi agonizam ali i antagonizam. Kristalografskom analizom utvrdili su dva modela vezanja BPA na ER, koji rezultiraju drugačijim učinkom na ER. Na temelju eksperimentalnih podataka, razvijena je protokol za *in silico* ispitivanje interakcija BPA

i ER-a koji bi mogao pomoći u kreiranju zamjena za BPA koje ne bi imale utjecaj na hormone. [15].

Phrakonkham i sur. (2008) ispitali su utjecaj prehrambenih ksenoestrogena na diferencijaciju preadipocita i sintezu leptina. U ovoj *in vitro* studiji ispitan je učinak apigenina, PBA, genisteina i 17- $\beta$ -estradiola na sazrijevanje adipoznih stanica. Utvrđeno je da genistein blokira sazrijevanje ovih stanica, BPA i estradiol pospješuju ekspresiju pojedinih gena, apigenin usporava adipogenezu i (neočekivano) pospješuje sintezu leptina. Uočena je sličnost u aktivnosti estrogena i BPA, no konkretan mehanizam ovisan o estrogenu nije utvrđen, ali je dokazano da izlaganje ksenoestrogenima ometa ekspresiju gena vezanih za adipocite i sintezu leptina [16].

I za BPA i za estradiol je utvrđeno da inhibiraju sekreciju adiponektina, hormona koji se smatra glavnim regulatorom osjetljivosti na inzulin i upalnih procesa u tkivima. Svaki čimbenik koji inhibira otpuštanje adiponektina može doprinijeti razvoju inzulinske rezistencije i povećati rizik od nastanka metaboličkog sindroma. Budući da BPA veže enzim protein disulfid izomerazu, time inhibira taj enzim, te na taj način ometa sintezu adiponektina [17].

BPA može utjecati na tjelesnu masu, kao što je prikazano u radu Rubin i sur. (2017). Ispitali su kako perinatalno izlaganje BPA utječe na masu i sastav tijela miša, u ovisnosti o dozi i spolu. Miševi su izloženi perinatalno ili perinatalno i pred pubertet dozi od 0, 0,25, 2,5, 25 ili 250  $\mu$ g BPA/kg/dan. U oba slučaja uočeni su dugotrajni učinci na masu i sastav tijela, a ovisili su o starosti i spolu. Dodatak u predpubertetskoj periodu pogoršali su učinak na ženke, dok su smanjili razlike u masi i sastavu tijela između mužjaka izloženih BPA i kontrolne skupine [18].

Vežanje BPA na ER igra važnu ulogu u tumorogenezi te je utvrđeno da interakcija BPA i ER pospješuje proliferaciju i migraciju nekoliko staničnih linija raka jajnika putem specifičnih mehanizama. Ptak i Gregoraszcuk (2012) utvrdile su da BPA ometa ekspresiju leptinskog receptora i aktivira nekoliko signalnih puteva koji doprinose razvoju raka jajnika. Istraživanje je provedeno *in vitro* na staničnoj liniji OVCAR-3 (engl. *ovarian epithelial carcinoma cell line*), koje su izložene BPA u dozama 0,2, 2, 8 i 20 ng/mL. Utvrđena je ekspresija leptinskog receptora, ali i izostanak ekspresije gena i proteina leptina te je došlo do fosforilacije određenih signalnih puteva (Stat3 i ERK1/2) [19]. Song i sur. (2015) utvrdili su da BPA stimulira proliferaciju stanica raka dojke putem ERK1/2/ERR $\gamma$  signala. Ispitana je nanomolarna doza BPA (koja je detektirana u većini tkiva) za koju je utvrđeno da znatno potiče proliferaciju ER-pozitivnih i ER-negativnih stanica raka dojke [20].

Osim toga, Dairekee i sur. (2013) utvrdili su da BPA inhibira proapoptotski učinak rapamicina i time ometa signalni put posredovan regulatornim proteinima p53 i BAX u slučaju

epitelnih stanica dojke. Na taj način BPA ometa pravilnu proliferaciju i apoptozu u benignim stanicama epitela dojke. Međutim, simultano izlaganje stanica BPA-u i kurkuminu dovelo je do djelomičnog ili potpunog smanjenja učinaka nastalih djelovanjem samog BPA, primjerice dolazi do smanjenja BPA uzrokovanog ometanja apoptoze. BPA utječe na brojne kontrolne točke staničnog preživljavanja, proliferacije i apoptoze, ali je utvrđeno i da se ovi učinci mogu učinkovito poboljšati [21].

Perera i sur. (2017) istražili su interakcije peptida s BPA kompleksima koristeći Micro Array testove i procijenili vezanje tih spojeva na AR pomoću simulacija molekularne dinamike. Rezultati koje su dobili pokazali su da na AR postoje višestruka vezna mjesta s različitim afinitetima za vezanje BPA što ukazuje na prisutnost izmijenjenih veznih površina na AR za interakcije s peptidima. Ovo istraživanje donekle je objasnilo toksičnost koja je uočena kod bisfenolnih spojeva, a povezana je s vezanjem na AR [22]. Vezanje BPA na AR ima uglavnom štetne učinke na muški reproduktivni sustav djelovanjem na spermatogenezu, steroidogenezu, atrofiju testisa te na promjenu parametara sperme [13].

Detaljni mehanizam putem kojeg BPA ometa pravilno funkcioniranje nuklearnih receptora nije poznat, pa su Li i sur. (2015) u tu svrhu koristili simulacije molekularne dinamike. Ispitali su interakciju BPA i 3 nuklearna receptora. Proveli su opsežno *in silico* ispitivanje koje je uključivalo pripremu početnih struktura (preuzete iz PDB-a), optimizaciju njihove geometrije (Gaussian 09 i AMBER 10), molekularnu dinamiku (AMBER 10) te izračune slobodne energije vezanja. Rezultati simulacija ukazuju na značaj vodikove veze i hidrofobnih interakcija, dok rezultati strukturne analize sugeriraju da BPA imitira aktivnost hormona kako bi se vezala za nuklearne receptore i održava nuklearne receptore u aktivnim konformacijama [23].

Ključnu ulogu u štetnim učincima niske doze BPA na zdravlje ima i vezanje BPA na membranske estrogenske receptore poput GPR30, G protien-spregnuti receptor sa sedam transmembranskih domena koji je identificiran u kasnim 1990-ima [13]. Afinitet vezanja BPA na GPR30 pokazali su Revankar i sur. (2007), koji su utvrdili da je afinitet BPA prema GPR30 čak oko 50 puta veći od afiniteta za ER- $\alpha$ . Sintetizirali su zbirku estrogenskih derivata koji mogu i koji ne mogu proći kroz staničnu membranu te su postavili hipotezu da je funkcionalni GPR30 izražen na površini stanice te da će i propusni i nepropusni derivati pokazati aktivnost. Zaključili su da unutarstanični GPR30 može inicirati stanično signaliziranje te da na površini stanice nema dovoljno GPR30 koji bi mogli započeti signaliziranje [24].

Cimmino i sur (2019) proučavali su učinke niske doze BPA na zrele ljudske adipocite i stanice stromalne vaskularne frakcije. Uzorci su uzeti iz potkožnog masnog tkiva dojki pretilih pacijentica koje su bile podvrgnute kirurškom smanjenju dojke. Izlaganje BPA u koncentraciji

od 0,1 nM tijekom 24 i 48 sati izazvalo je značajno povećanje upalnih molekula i razina GPR30 što dovodi do zaključka kako niske doze BPA povećavaju GPR30 i proizvodnju specifičnih upalnih proteina u zrelim adipocitima i stanicama stromalne vaskularne frakcije. U ovom radu pokazano je kako vezanje BPA na GPR30 može aktivirati signalne transdukcijske puteve regrutirajući ključne transkripcijske faktore koji su uključeni u metabolizam energije i nutrijenata [25].

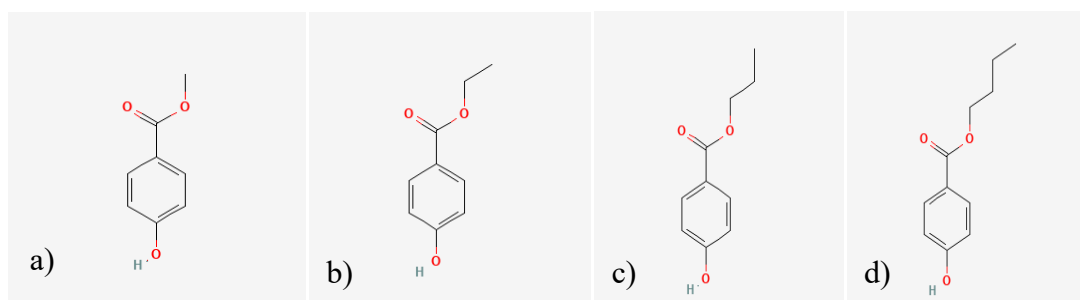
Osim na reproduktivni sustav, BPA može djelovati i na druge organske sustave, a igra bitnu ulogu u pretilosti te regulaciji inzulina. U prisutnosti stimulirajućih koncentracija glukoze u  $\beta$  stanicama gušterače, niske koncentracije BPA pomoću cikličkog gvanozin monofosfata uzrokuju aktivaciju protein kinaze G i smanjuju aktivnost kalijevog kanala pojačavajući tako glukozom inducirane signalne puteve i oslobađanje inzulina. Do oslobađanja inzulina dolazi tako što se molekula estrogena veže na membranske receptore i zatvara kalijev kanal koji se nalazi u receptoru, membrana se depolarizira što omogućuje ulazak kalcija koji pokreće oslobađanje inzulina [26]. Ohlstein i sur. (2014) te Boucher i sur. (2015) pokazali su da BPA može uzrokovati povećanu adipogenezu u ljudskim stanicama. Ohlstein i sur. (2014) pratili su učinke BPA na adipogenezu kultiviranih ljudskih stroma stanica masnog tkiva zrelih adipocita. Stroma stanice masnog tkiva kultivirane su 14 ili 21 dan u mediju za adipogenu diferencijaciju koji su sadržavali rastuće koncentracije BPA. Utvrđeno je da izloženost BPA smanjuje osjetljivost adipocita na inzulin zbog smanjene ekspresije transportera glukoze 1 i fosforilacije inzulinskog receptora što uzrokuje poremećaje u metabolizmu glukoze i povećava rizik od dijabetesa tipa 2 [27]. Boucher i sur. (2015) ispitali su utjecaj BPA na diferencijaciju adipocita i akumulaciju masti *in vitro*. Koristili su metabolit BPA, BPA-glukuronid (BPA-G), za koji se smatralo ga je biološki nekativan i da ne djeluje kao pseudoestrogen. U radu su koristili humane preadipocite i 3T3-L1 modelni sustav preadipocita (miš) – sustav staničnih linija koje se koriste kao model za ispitivanje diferencijacije adipocita, koji je poslužio za kvantifikaciju lipidne akumulacije i za ispitivanje ekspresije adipogenih markera. Nakon tretmana preadipocita s 10  $\mu$ M BPA-G uočena je povećana akumulacija lipida, povećana ekspresija mRNA adipogenih markera za razne faktore. U slučaju humanih preadipocita, BPA-G također izaziva adipogenezu. Osim toga, zanimljivo je da BPA-G nije pokazao značajnu estrogensku aktivnost [28].

Europska inicijativa za ljudski biomonitoring (engl. *The European human biomonitoring initiative*) u periodu od siječnja 2017. pa do lipnja 2022. provela je ispitivanje o pojavi kemikalija u europskoj populaciji te njihov utjecaj na zdravlje. Istraživanje se provelo na 2756 odraslih ispitanika iz 11 različitih europskih zemalja (Hrvatska, Češka, Danska, Francuska,

Finska, Njemačka, Island, Luksemburg, Poljska, Portugal i Švicarska). Testiranje se može provoditi na uzorcima kose, krvi i urina, a u ovom su istraživanju upotrijebili uzorke urina. Rezultati dobiveni iz uzoraka urina pokazali su prisutnost BPA kod čak 92 % ispitanika. Kako bi odredili koliko je ovaj podatak zabrinjavajuć usporedili su podatke koji su dobiveni s podacima o izloženosti BPA te su došli do zaključka da je izloženost Europljana BPA previsoka i da predstavlja potencijalnu zdravstvenu opasnost uzimajući u obzir štetne učinke koje BPA može stvoriti u organizmu [29].

### 2.1.2. Parabeni

Parabeni su skupina alkilnih estera *p*-hidroskibenzojeve kiseline. Koriste se kao antimikrobna sredstva i konzervansi u proizvodima za njegu lica i tijela, hrani te u lijekovima [2]. Najčešće korišteni parabeni su: metilparaben, propilparaben, etilparaben te butilparaben, čije su strukture prikazane na Slici 5. Kemijski su stabilni i učinkoviti u širokom pH rasponu te imaju široku antimikrobnu aktivnost osobito protiv Gram-pozitivnih bakterija i gljivica [30]. Antimikrobna i estrogenska aktivnost parabena povezane su s duljinom alkilnog lanca, pa tako aktivnost raste s povećanjem duljine bočnog lanca, prema tome od gore navedenih najveću aktivnost ima butilparaben [31]. Za razliku od antimikrobne aktivnosti, topljivost se smanjuje kako se duljina alifatskog dijela lanca povećava [30].



**Slika 5.** Struktura a) metilparabena [32], b) etilparabena [33], c) propilparabena [34] i d) butilparabena [35]

Parabeni u tijelo uglavnom ulaze apsorpcijom preko kože, no do unosa može doći i gutanjem te inhalacijom. Ulaskom u organizam potpuno se metaboliziraju do manjih spojeva koji se izluče urinom [36]. Kao što se BPA veže za ER isto tako se vežu i parabeni. Vežanje je slabije od vežanja BPA, no povezano je s duljinom lanca te se jačina vežanja povećava s



povećanjem duljine lanca. Parabeni mogu poremetiti rad hormona, oštetiti reproduktivne organe, doprinijeti neplodnosti, uzrokovati iritacije na koži pa u najgorem slučaju čak dovesti i do nekog oblika tumora [37]. Centar za kontrolu i prevenciju bolesti, CDC (engl. *Centers for Disease Control and Prevention*) proveo je istraživanje o zdravlju i prehrani na stanovnicima SAD-a u kojem se otkrilo da je propilparaben prisutan kod više od 92 % ispitanika, a butilparaben u oko 50 % njih. Za ispitivanje se uzelo 2548 uzoraka urina ispitanika starih 6 godina i više. Parabeni u urinu su koncentrirani pomoću online ekstrakcije na čvrstoj fazi te su odvojeni od ostalih komponenti tekućinskom kromatografijom. Rezultati su otkrili metilparaben u 99,1 % uzoraka, propilparaben u 92,7 % uzoraka, etilparaben u 42,4 %, a butilparaben u 47 % analiziranih uzoraka. Koncentracije metilparabena značajno su više među crnom rasom nego među bijelom. Odrasle žene i adolescentice imale su značajno više koncentracije metil- i propilparabena nego muškarci iste dobi [38].

Harley i sur. (2016) napravili su studiju u koju su uključili 100 adolescentica Latinoamerike. Cilj istraživanja bio je utvrditi može li se korištenjem kozmetičkih proizvoda na čijim etiketama piše da ne sadrže parabene smanjiti koncentracija u urinu unutar tri dana. Prikupljeni su uzorci urina prije i nakon prestanka korištenja proizvoda, a parabeni su analizirani pomoću tekućinske kromatografije i masene spektrometrije. Rezultati su pokazali da su se koncentracije metil- i propilparabena smanjile za 43,9 % i 45,4 %, ali su se i neočekivano povećale koncentracije etil- i butilparabena iako je ukupna koncentracija bila vrlo niska [39].

Shin i sur. (2019) proučavanjem parabena i njihove biotransformacije pokazali su da je izloženost parabenu u većini slučajeva oralnim putem, a više od 90 % parabena izlučuje se u urinu kao konjugati te nemaju biološku aktivnost. Cilj ove studije bio je utvrditi farmakokinetičke karakteristike propilparabena kod ljudi nakon jedne oralne primjene od 0,6 mg/kg i 2,5 mg/kg. Uzorci krvi i urina prikupljeni su unutar 48 sati. Dobivenim rezultatima utvrdili su da se propilparaben brzo apsorbira putem probavnog sustava unutar 2 sata te se brzo eliminira. Ukupna doza slobodnog izlučenog propilparabena iznosila je 0,05 %, a ukupnog parabena 8,6 % [40]. Kao što je prethodno spomenuto, lipofilnost parabena raste s porastom alifatskog lanca isto kao i antimikrobna aktivnost te je zbog te promjenjivosti vrlo malo slobodnog oblika parabena pronađeno u urinu [30].

Ma i sur. (2016) analizirali su parabene u 100 komercijalnih farmaceutskih proizvoda prikupljenih iz Kine. Metil- i etilparaben bili su najzastupljeniji spojevi. Rezultati su pokazali da razine parabena variraju u različitim proizvodima te da se povećavaju s njihovim rokom trajanja. Prema dobivenim rezultatima izračunali su prosječni dnevni unos parabena. Srednja

dobivena vrijednost za muškarce iznosila je 4,05 ng/kg na dan, za žene 4,75 ng/kg na dan, a za djecu 9,73 ng/kg na dan. Ovi rezultati pokazali su da je izloženost parabenima putem farmaceutskih proizvoda puno manja od izloženosti putem prehrambenih i kozmetičkih proizvoda [41].

Osnovna premisa toksikologije, da doza definira otrov, u slučaju endokrinih disruptora nije primjenjiva, budući da imaju prilično složen mehanizam djelovanja. Primjerice, najmanja doza disruptora može utjecati na proliferaciju stanica, dok veće doze mogu imati suprotni učinak i spriječiti rast stanica. Ovakav učinak je uočen kod fitoestrogena, ali kod parabena ne. Darbre (2015) prikazuje rezultate *in vitro* ispitivanja radiooznačenog estradiola, kreiranog kako bi se ispitala kompetitivna inhibicija ER-a. Utvrđeno je da koncentracija parabena treba biti za nekoliko redova veličine veća od estradiola, da bi paraben mogao imati bilo kakav učinak na ER. Vjeruje se da je razlog tome manji vezni afinitet parabena za ER ili nešto drugo [30].

Iako se estrogenska aktivnost parabena povećava povećanjem alifatskog lanca još uvijek je ta aktivnost vrlo slaba, čak  $1-3 \times 10^6$  slabija od estradiola. Esteri parabena vrlo brzo metaboliziraju u relativno neaktivan metabolit te već u mikromolarnoj koncentraciji ometaju normalnu estrogensku aktivnost [30]. Engeli i sur. (2017) ispitali su utjecaj parabena na metabolizam estrogena putem inhibicije  $17\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaza (tip 1, koji je estrogen aktivirajući, i tip 2, koji je estrogen inaktivirajući). Provedena je kombinirana *in silico* i *in vitro* studija, a cilje je bio utvrditi odvija li se inhibicija aktivnosti tipa 1 i 2. Svi ispitani parabeni i parabenima nalik spojevi (uz iznimku *p*-hidroksibenzojeve kiseline) inhibirali su tip 2. U slučaju inhibicije tipa 1, najaktivniji su bili heksil- i heptilparaben. Međutim, ovi spojevi prolaze brze metaboličke promjene do neaktivne *p*-hidroksibenzojeve kiseline, zbog čega je potrebno utvrditi koncentracije pri kojima ovi spojevi mogu u ciljnim stanicama učinkovito ometati funkcioniranje estrogena [42].

Lee i sur. (2017) istražili su utjecaj parabena na folikulogenezu i steroidogenezu jajnika. Za izazivanje prijevremene insuficijencije jajnika korišten je disruptor 4-vinilcikloheksen diepoxid (VCD, 40 mg/kg). Metil-, propil- i butilparaben (100 mg/kg) otopljeni su u kukuruznom ulju te su davani kroz 5 tjedana ženki štakora staroj 8 tjedana. Status ciklusa estrusa provjeravan je svakodnevno Papa testom, a razvoj folikula jajnika i sinteza steroida pomoću PCR-a i histoloških analiza. Faze diestrusa u slučaju VCD-a, propil- i butilparabena bile su duže, a utvrđeno je i da VCD znatno smanjuje koncentraciju mRNA za gene uključene u folikulogenezu. Parabeni su pokazali različit učinak – povećali su koncentraciju mRNA za neke gene, ali na koncentraciju mRNA za druge gene nisu imali učinak. VCD i paraben pokazali

su utjecaj na inicijalni korak steroidogeneze, povećali konc. FSH u serumu i smanjili ukupan broj folikula. Na taj način, ovi spojevi ometaju pravilno funkcioniranje jajnika [43].

Parabeni bi zbog svoje estrogenske aktivnosti i činjenice da je estrogen glavni faktor rasta koji se povezuje s nastankom karcinoma dojke mogli biti povezani sa sve većom incidencijom raka dojke [44]. Charles i Darbre (2013) ispitivali su pragove stimulacije koju parabeni pokazuju za MCF-7 staničnu liniju raka dojke. Pragovi stimulacije uspoređivani su s koncentracijama koje su utvrđene u 160 uzoraka tkiva dojke te je utvrđeno da 27 % uzoraka sadrži barem jedan paraben u većoj koncentraciji od najniže koja pokazuje učinak u staničnoj liniji raka dojke. 12 uzoraka pokazivalo je dovoljno veliku koncentraciju jednog od ispitanih parabena koja je dovoljna za poliferaciju MCF-7 stanice dojke [45]. Iako se kozmetički proizvodi vrlo često smatraju jednim od glavnih izvora nastanka raka dojke, Barr i sur. (2012) otkrili su prisutnost parabenskih estera u 99 % ispitivanih žena (uzorak od njih 40) koje su bolovale od raka dojke, a među njima su bile i one koje nisu koristile kozmetičke proizvode, prvenstveno dezodoranse koji sadrže parabene, te su zaključili da se transport parabena do tkiva dojke može dogoditi i iz drugih izvora. Mjerili su koncentraciju 5 estera parabena na četiri mjesta u dojci od pazuha do prsne kosti kod 60 žena starosti 37-91 godina. Jedan ili više estera parabena pronađeni su u 99 % uzoraka, a u čak 60 % uzoraka pronađeno je svih pet estera. Najviše vrijednosti pronađene su za metil- i propilparaben (16,6 i 16,8 ng/g tkiva), dok su razine butilparabena bile 5,4 ng/g, a za etil- i izobutilparaben 3,4 i 2,1 ng/g tkiva. Parabeni su pronađeni u uzorcima čak 17,5 % pacijentica koje su tvrdile kako nikada nisu koristile kozmetičke proizvode za pazuhe [46].

Calafat i sur. (2010) proveli su analizu ljudskog urina, koja izravno odražava izloženost parabenima, na općoj populaciji Amerike uzimajući crnu i bijelu rasu te uključujući muškarce i žene odrasle dobi kao ispitanike. Utvrdili su da su žene imale 3 puta veću vrijednost metilparabena te sedam puta veću vrijednost propilparabena od muškaraca, a crna rasa u odnosu na bijelu je više izložena parabenima. Zanimljivost kod ovog istraživanja je ta da rezultati nisu pokazali razlike u zdravstvenom stanju ispitanika bez obzira na izloženost parabenima [38].

Oishi i sur. (2002) te Hoberman i sur. (2008) neovisno jedni o drugima proučili su učinke parabena na muški reproduktivni sustav. Oishi i sur. (2002) proučavali su učinke propil- i butilparabena na muškim glodavcima, konkretno štakorima i miševima u dobi od 4 do 6 tjedana starosti. Tijekom 4 tjedna hranjeni su parabenima u dozama od 15, 150 i 1500 mg/kg dnevno, a studije koje su proveli uključivale su mjerenje mase epididimisa i testisa, zalihu sperme te razinu testosterona. Rezultati koje su dobili pokazali su da minimalna doza parabena ne pokazuje nikakve učinke, dok više doze djeluju na smanjenje razine testosterona u obje vrste.

Razlika kod miševa i štakora uočena je kod mase epididimisa koja se kod štakora koji su bili podvrgnuti najvišim dozama butilparabena smanjila za 15 %, dok se s druge strane kod miševa povećala za 15 %, ovakva neočekivana odstupanja autori nisu uspjeli objasniti. Uočen je i smanjen broj okruglih i izduženih spermata [47]. S druge strane Hoberman i sur. (2008) su proveli slično istraživanje u kojem su tijekom 8 tjedana miševima davane doze od 0, 100, 1000 i 10 000 ppm butilparabena ili metilparabena. Miševi su u trenutku ispitivanja imali 22 dana. Autori su pratili utjecaj navedenih parabena na masu organa, reproduktivne organe, proizvodnju spermija, pokretljivost, morfologiju te razinu reproduktivnih hormona. Za razliku od studije koju su proveli Oishi i sur. (2002) rezultati Hobermana i sur. (2008) pokazivali su da nema promjene u razini testosterona, spermatogenezi niti u dozama primjenjenih parabena [48]. Moguća razlika u dobivenim rezultatima je u tome što su razine testosterona i mjerene sperme kod Hobermana i sur. (2008) bile u skladu s podacima Nacionalnog toksikološkog programa, NTP (engl. *National Toxicology Program*), dok su s druge strane u studiji Oishi i sur. (2002) razine testosterona 4-5 puta više uz odstupanje u koncentraciji sperme [30].

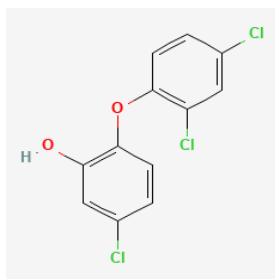
Iako su ljudi svih životnih dobi izloženi parabenima svakodnevnom primjenom proizvoda koji ih sadrže, najosjetljiviji su ipak fetusi, novorođenčad i djeca. Studija Kang i sur. (2013) na trudnicama i dojenčadi u Koreji pokazala je kako su parabeni prisutni u prvom urinu novorođenčadi što je dokaz transplacentalnog prolaza parabena [49]. Uzorci urina kod 46 trudnica uzeti su jedan dan prije poroda, dok su uzorci urina novorođenčadi uzeti 48 sati nakon poroda. Rezultati su pokazali da je metilparaben prisutan u 100 % uzoraka dojenčadi i 98 % uzoraka urina majki, etilparaben i propilparaben pronađeni su u nižim koncentracijama, dok je najmanje pronađeno butilparabena. Omjeri koncentracija parabena u urinu novorođenčadi u odnosu na majke varirali su između 0,5 za metilparaben i 0,6 za propilparaben, a 10 puta su bili niži za etilparaben. Za razliku od drugih zapadnih zemalja utvrđeno je da su razine etilparabena u urinu kod korejskih trudnica 4-9 puta veće, dok su koncentracije ostalih parabena približno jednake. Uspoređujući razine parabena u uzorcima urina dojenčadi i majki, utvrđeno je da su razine parabena kod dojenčadi ipak niže za do 10 puta [49].

Park i sur. (2019) proučavali su izloženost dojenčadi parabenima preko majčinog mlijeka tako što su mjerili razine parabena u mlijeku majke. Ispitano je mlijeko 260 žena, a uzorci kolostruma (mlijeko 1-5 dana nakon poroda) i prijelaznog mlijeka (6-15 dana nakon poroda) uzeti su unutar 15 dana od poroda. Ispitana su četiri parabena u uzorcima majčinog mlijeka, metil-, etil-, propil- i butilparaben. Rezultati su pokazali da je najviše zastupljen etilparaben nakon čega slijede redom metilparaben, propilparaben i butilparaben. Višestruke analize pokazale su da su uzorci kolostruma i prijelaznog mlijeka imali više razine etilparabena nego

uzorci zrelog mlijeka. Iako se pokazalo da je unos parabena preko majčinog mlijeka zanemariv u usporedbi s dozvoljenim dnevnim unosom (0-10 mg/kg dnevno), ipak je potrebno pokušati umanjiti izloženost djece, jer su oni puno osjetljiviji od odraslih [50].

### 2.1.3. Triklosan

Triklosan, 5-kloro-2-(2,4-diklorofenoksi) fenol (Slika 6.), još je jedan od primjera endokrinih disruptora. Zbog širokog spektra antibakterijskog i antifungalnog djelovanja koristi se u kućanstvu, farmaceutskoj industriji te u veterini [1]. U prošlosti triklosan je bio upotrebljavan kao pesticid, a kasnije je našao primjenu u sapunima. Bio je zastupljen u proizvodima za osobnu higijenu, kao i u dekorativnoj kozmetici, no u posljednje vrijeme sve je manje proizvoda koji sadrže ovaj kemijski spoj [51].



**Slika 6.** Struktura triklosana [52]

Iako je Europska Unija 2017. godine zabranila prisutnost triklosana u svim higijenskim proizvodima, on je još uvijek prisutan u nekim pastama za zube i u gotovo svim sredstvima za dezinfekciju [51]. Zbog toga su ljudi, pogotovo žene, izrazito izloženi doticaju s triklosanom koji se vrlo lako apsorbira u organizam i izaziva zdravstvene probleme. Triklosan, TCS (engl. *triclosan*) u organizam ulazi uglavnom gutanjem, dermalnim kontaktom ili udisanjem iz dezodoransa te nekih osvježivača zraka [2].

Dermalnim putem, TCS se vrlo lako apsorbira zbog svojih lipofilnih svojstava, a istraživanje koje su proveli Moss i sur. (2000) pokazalo je da je nakon 24 sata u ljudskoj koži u *in vitro* uvjetima prisutno čak 12 % TCS, dok je kod štakora u istom vremenskom periodu prisutno oko 26 % TCS-a. Autori su usporedili *in vivo* i *in vitro* apsorpciju TCS-a kroz kožu te odredili potencijal kože da metabolizira TCS prije nego uđe u krvotok. Na koži štakora primijenili su 64,5 mM alkoholne otopine TCS-a te su utvrdili da je 12 % radioaktivnosti pronađeno u izmetu, 1 % u urinu, a 26 % je isprano s kože 24 sata nakon primjene. Utvrdili su

da TCS prodire brže kroz kožu štakora nego kroz ljudsku kožu. U roku od 24 sata 23 % doze potpuno je prošlo kroz kožu štakora, dok je kroz ljudsku kožu prošlo 6,3 % doze. Ovi rezultati dovode do zaključka da je izloženost kože TCS-u dulja kod ljudi nego kod štakora [53].

Moss i sur. (2000) proveli su i ispitivanje izloženosti stanice TCS-u koristeći biopsiju ljudske kože izloženu TCS-u jedan sat. Volumen biopsije kože iznosio je  $1,5 \times 10^{10} \mu\text{m}^3$ , dok je izračunat prosječan volumen stanice iznosio  $1766 \mu\text{m}^3$ . Dijeljenjem ukupnog volumena testnog tkiva s volumenom pojedinačne stanice došli su do otprilike 8,3 milijuna stanica ljudske kože po testiranom uzorku. Testirano tkivo izložili su  $7 \mu\text{l}$  64,5 mM TCS-a, dok je 3 % primijenjene doze apsorbirano u svom matičnom obliku unutar jednog sata od izloženosti. Uzimajući u obzir da je svaki uzorak sadržavao 8,3 milijuna stanica ljudske kože, svaka je stanica bila izložena  $1,7 \times 10^{-15}$  mol TCS-a. Gledajući jednu prosječnu stanicu, došli su do zaključka da je 2,4 nmol TCS-a/mg proteina apsorbirano u jednom uzorku ljudske kože. Ovim istraživanjem utvrđeno je da izloženost tkiva TCS-u iz nekog antimikrobnog proizvoda iznosi približno 0,4 nmol TCS-a/mg tkivnog proteina [53].

Papavasilopoulos i sur. (2022) napravili su bibliometrijsku analizu kako bi utvrdili kakav utjecaj ima TCS na zdravlje. Zaključili su da TCS ima sposobnost prodiranja kroz sve tjelesne barijere, pa tako i preko posteljice do fetusa, a može igrati vrlo važnu ulogu u mnogim zdravstvenim problemima, kao što su endokrina disfunkcija, nepravilan embrionalni razvoj i imunološka supresija [54].

Koncentracija TCS-a u urinu neizravni pokazatelj je TCS-a u tkivu, no pretpostavlja se da koncentracija TCS-a koja se pronade u urinu nije sasvim relevantna onoj koja se pripisuje toksičnosti TCS-a unutar određenog tkiva te je koncentracija u tkivu zapravo odgovorna za određene štetne učinke. Apsorpcija TCS-a u pojedinoj stanici može se izračunati množenjem količine TCS-a koji je ušao u stanicu i prosječne stanične mase koja iznosi  $3,5 \times 10^{-6}$  mg. Jedna prosječna stanica sastoji se od 20 % proteina [51]. Prema istraživanju Wetherly i sur. (2013) izlaganje stanice (mastociti) mediju koji sadrži 10  $\mu\text{M}$  TCS-a izazvalo je štetne učinke koji uključuju disocijaciju mitohondrija u različitim tipovima stanica unutar jednog sata izloženosti. Da bi usporedili vrijednosti od 0,4-64 nmol/mg s *in vitro* staničnim studijama učinka TCS-a, uzeto je 200  $\mu\text{L}$  TCS-a koncentracije 10  $\mu\text{M}$  koji se obično koristi u vodenom puferu 100 000 stanica s pretpostavkom da se 10 % TCS-a apsorbira. Uzimajući u obzir ove podatke dobili su rezultat od  $2 \times 10^{-15}$  mol TCS-a po stanici unutar jednog sata izloženosti. Uzimajući u obzir prosječnu stanicu dobili su rezultat od 2,8 nmol TCS-a po mg proteina sisavaca unutar jedne prosječne stanice koji izaziva mitotoksičnost u stanicama sisavaca [55].

Slično istraživanje i slične rezultate dobili su Newton i sur. (2005) kada su izravno mjerili apsorbirani TCS u izoliranim mitohondrijima jetre štakora. Mitohondriji jetre bili su podvrgnuti TCS-u do 60 nmol mg<sup>-1</sup> proteina. Rezultati su pokazali da je 2,5 nmol TCS-a/ mg proteina pokazalo mitohondrijsku razdvojenost [56]. S druge strane, Escarrone i sur. (2016) otkrili su razinu od 0,49 nmol TCS-a/mg proteina u ribljem mozgu. Naime, zbog široke primjene TCS-a, on se kontinuirano otpušta u okoliš te se često može detektirati u vodenom ekosustavu. Obzirom na bioakumulaciju i toksičnost TCS-a za vodene organizme, ekološka sudbina TCS-a predmet je brojnih studija. U ovom istraživanju, ribica *Poecilia vivipara* Bloch & Schneider izložena je koncentraciji od 0,2 mg/L TCS-a. Biokoncentracija TCS-a se povećavala s vremenom dosegnuvši stanje ravnoteže u razdoblju 7-14 dana za većinu tkiva. Nakon 24 sata čišćenja tkiva od izloženosti TCS-u, koncentracija se smanjila za više od 80 % u svim tkivima osim u jetri gdje je vrijeme čišćenja duže [57]. Prema svim navedenim istraživanjima zaključak je da doze od 0,8 do 2,8 nmol TCS-a/mg proteina unutar neke stanice ili tkiva izazivaju štetne učinke što pokazuje da neki potrošački proizvodi mogu izazvati štetne učinke u stanicama kao što su keratinociti i stanice oralne sluznice koji su najviše izloženi takvim proizvodima [53].

Calafat i sur. (2008) pokazali su veliku zastupljenost TCS-a u uzorcima urina. Istraživanje koje je provedeno u SAD-u između 2003. i 2004. pokazalo je da je u čak 75 % stanovništva koncentracija TCS-a u urinu iznosila 7,9 nM – 13,1 μM. Analizirano je 2517 uzoraka urina kod ispitanika starijih od 6 godina pomoću automatizirane ekstrakcije čvrste faze spojene s razrjeđivanjem izotopa tekućinskom kromatografijom visoke učinkovitosti. Uspoređujući rezultate analiziranih uzoraka zaključili su da su koncentracije TCS-a bile veće kod ljudi s visokim prihodima nego kod ljudi s niskim prihodima te u trećem desetljeću života [58]. Yin i sur. (2016) proučavanjem izloženosti opće kineske populacije TCS-u u uzorcima urina i noktiju došli su do rezultata koji su pokazivali mjerljivu razinu TCS-a u čak 80 % ispitanika od njih 209. U studiji su sudjelovali zdravi dobrovoljci (105 muškaraca i 104 žene), dobi 19-82 godina, isključivo stanovnici Bejinga ili Sečuana. Urin je uzorkovan nekoliko puta tijekom dana (50 mL), a nokti su skupljani pomoću obične kozmetičke grickalice (100 mg). Srednje koncentracije pronađenog TCS-a u urinu iznosile su 0,30-0,56 μg/g dok su u uzorcima noktiju ruke razine TCS-a bile 13,57 μg/kg, a u uzorcima noktiju noge 84,66 μg/kg. Rezultati koje su dobili pokazali su višu koncentraciju TCS-a kod žena nego kod muškaraca u uzorcima urina i noktiju ruke, dok s druge strane u uzorcima noktiju noge nisu pronađene veće razlike. Uzimajući u obzir godine, najviše TCS-a pronađeno je u dobi od 19 do 29 godina [59].

U Australiji su Heffernan i sur. (2015) iz urina koji je prikupljen i analiziran u svrhu rutinskog testiranja u državi Queensland između studenog 2012. i studenog 2013. proveli

ispitivanje o utjecaju TCS-a na organizam. Ispitano je ukupno 2400 individualnih uzoraka koji suspojeni su u skupine ovisno o dobi i spolu (skupine su bile 0-4, 5-14, 15-29, 20-44, 45-59 i > 60 godina) te je izmjerena koncentracija u svakom skupu. Koncentracije slobodnih i ukupnih oblika TCS-a mjerene su pomoću ekstrakcije na čvrstoj fazi kao i u istraživanju Yin i sur. (2016). TCS je detektiran u svim uzorcima urina u rasponu koncentracija 24,1-205 ng/mL, dok je srednja koncentracija iznosila 87,7 ng/mL. Rezultati su pokazali da koncentracija TCS-a nije linearna s dobi ispitanika, a najviše koncentracije pronađene su u dobi od 15 do 29 godina, dok razlike u koncentracijama između muškaraca i žena nisu bile značajne [60].

Razina TCS-a razlikuje se ovisno o mjestu u organizmu koje se mjeri. Oralnom primjenom proizvoda koji sadrže TCS, razina TCS-a vrlo brzo raste u krvnoj plazmi [53]. Sandborgh-Englund i sur. (2006) su proveli studiju čiji je cilj bio dobiti osnovne informacije o razinama triklosana u plazmi i urinu te proučiti farmakološki učinak TCS-a nakon uzimanja jedne doze. U svom su ispitivanju izložili deset zdravih ispitanika jednoj oralnoj dozi od 4 mg TCS-a gutanjem vodice za ispiranje usta. Razine TCS-a u urinu i plazmi praćeni su 8 dana prije i 8 dana nakon izlaganja TCS-u. Razine TCS-a u plazmi vrlo su brzo rasle do maksimalne koncentracije unutar 1-3 sata, a glavni dio izlučen je unutar prva 24 sata. Što se tiče mokraćne izlučivanja je variralo ovisno o ispitanicima, tijekom prva 4 dana izlučeno je između 24 i 83 % oralne doze. Rezultati su pokazali da se gutanjem jedne žlice vodice za ispiranje usta koja sadrži TCS, razina TCS-a u plazmi povećala na 1 $\mu$ M unutar 1-3 sata. Svojim su istraživanjem došli do zaključka da se TCS lako apsorbira iz gastrointestinalnog trakta i ima brzu promjenu kod ljudi [61].

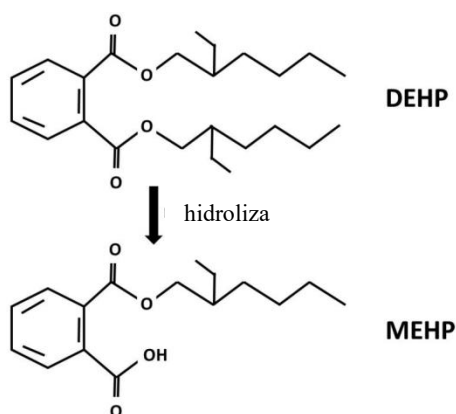
Metabolizam ksenobiotika, a time i TCS-a, prolazi kroz dvije faze. Faza I čini spoj polarnijim te povećava njegovu reaktivnost za metabolizam u fazi II. Faza II uključuje konjugaciju s polarnom molekulom kako bi se povećala topljivost u vodi. Dvije glavne reakcije koje su uključene u fazu II su glukuronidacija u kojoj dolazi do konjugacije s glukuronskom kiselinom te sulfonacija u kojoj dolazi do konjugacije sa sulfatom. Obje reakcije povećavaju molekularnu masu spoja i čine metabolite manje aktivnima. Glukuronska kiselina i sulfat dodaju se hidroksilnoj skupini TCS-a i dodaje se visoko nabijeni polarni dio [53]. Studija Provencher i sur. (2014) dokazala je TCS-sulfat i TCS-glukuronid u svim uzorcima urina (46 ispitanika – 26 muškaraca, 20 žena, dob 4-80 godina, uorci urina skupljeni u ožujku 2013. u propilensku bocu od 500 mL). U ovom su istraživanju razvijene vrlo osjetljive metode (engl. *Isotope dilution-liquid chromatography/tandem mass spectrometry, ID-LC-MS/MS*) za pojedinačno mjerenje slobodnog TCS-a i njegovih metabolita TCS glukoronida i TCS sulfata u urinu. Rezultati su pokazali da su glukoronidni metaboliti TCS-a najzastupljeniji u urinu (više



od 94 %), dok su nekonjugirane koncentracije TCS-a činile samo mali dio ukupnih TCS vrsta (1,6 %) [62]. Wang i sur. (2004) napravili su studiju koja je procijenila interakcije TCS-a kao supstrata i inhibitora 3'-fosfoadenozin 5'-fosfosulfat-sulfotransferaze i UDP-glukuronozil-transferaze u ljudskom jetrenom citosolu i mikrosomima.  $K_m$  i  $V_{max}$  vrijednosti za sulfonaciju TCS-a bile su  $8,5 \mu\text{M}$  i  $0,096 \text{ nmol/min/mg}$  proteina, a za glukoronidaciju  $107 \mu\text{M}$  i  $0,739 \text{ nmol/min/mg}$ . Autori su uočili da je uz povećanje glukoronidacije i sulfonacije metabolizma TCS-a smanjena citotoksičnost TCS-a. Nakon izloženosti ljudskih jetrenih frakcija  $1\text{-}5 \mu\text{M}$  TCS-a tijekom 30 minuta proizvodili su se jednako TCS-sulfat i TCS-glukoronid. Nakon većih koncentracija od  $20 \mu\text{M}$  TCS-a prevladala je glukoronidacija dok su doze ispod  $1 \mu\text{M}$  dovele do sulfonacije [63].

#### 2.1.4. Ftalati

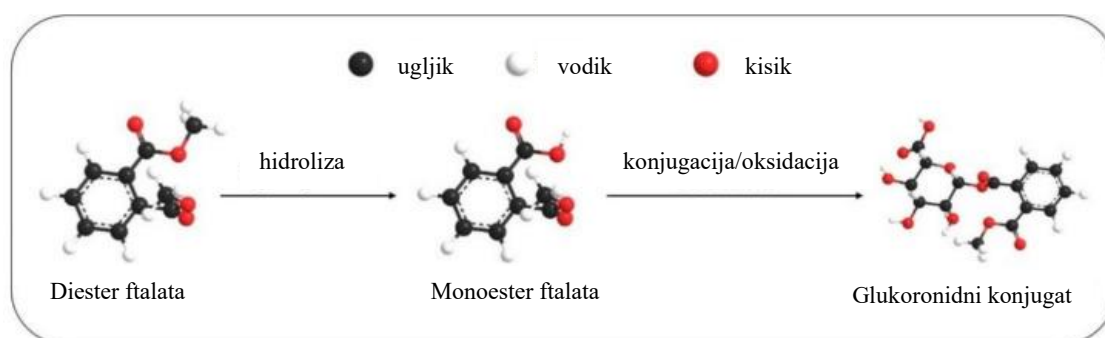
Od izuma plastike 1907. godine, iako je ona donijela mnogo koristi, ipak predstavlja velike rizike za okoliš i ljudski organizam. Dugotrajna izloženost plastici može dovesti do ispuštanja štetnih tvari od kojih su posebno zabrinjavajući ftalati [64]. Ftalati su skupina spojeva koja se uglavnom koristi kao plastifikatori u proizvodnji kozmetike, mekih igračaka, medicinskih uređaja, plastičnih vrećica, boca itd. [65]. Dodaju se kako bi omekšali plastiku, no vrlo lako mogu ometati funkcioniranje endokrinog sustava, a djeca su posebno osjetljiva na ftalate [64]. Di-2-etilheksil ftalat, DEHP (engl. *diethylhexyl phthalate*) i 2-etilheksil ftalat, MEHP (engl. *mono (2-ethylhexyl) phthalate*), čije su strukture prikazane na Slici 7., najčešće su korišteni ftalati, a poznati su i kao endokrini disruptori.



**Slika 7.** Struktura DEHP-a i MEHP-a (preuzeto iz [54])

Ftalati mogu ući u organizam na tri načina: oralno, inhalacijom ili dermalnim putem. Li i sur. (2022) istražili su distribuciju metabolita ftalata u različitim krvnim matricama ljudi. Uzeti su uzorci seruma te krvi 145 odraslih osoba, od kojih je bilo 76 muškaraca i 69 žena u Kini te su analizirali 9 metabolita ftalata. Svi metaboliti imali su visoke detekcije u krvi i serumu, a ukupne koncentracije bile su između 0,70-61 ng/mL, tj. u prosjeku 12 ng/mL. Rezultati su pokazali da su žene imale više metabolita ftalata u serumu u usporedbi s muškarcima, a najmlađa ispitivana skupina (20-30 godina) imala je najniže koncentracije ftalata. Zaključeno je da se 24-satna doza unosa ftalata, koja ovisi o načinu unosa (0,65 µg/kg dermalnim unosom, 0,5 µg/kg oralnim unosom i 0,35 µg/kg inhalacijom), ne može metabolizirati i izlučiti unutar 48 sati, stoga je za proučavanje stvarnog učinka određene doze ftalata u organizmu potrebno provesti istraživanja barem unutar 48 h [65].

Ftalati imaju kratko vrijeme poluraspada (oko 12 sati) pa je i sam metabolizam vrlo brz, a provodi se u dva koraka koja su prikazana na Slici 8. Prvi korak je hidroliza nakon apsorpcije u stanice, a drugi korak uključuje konjugaciju kako bi se formirao hidrofilni glukoronidni konjugat [64].



**Slika 8.** Metabolizam ftalata (preuzeto i prilagođeno iz [64])

Ftalati se dijele na kratkorazgranate i dugorazgranate. Kratkorazgranati često hidroliziraju u monoesterske ftalate i izlučuju se urinom, dok s druge strane dugorazgranati ftalati prolaze kroz nekoliko biotransformacija kao što su hidroksilacija te oksidacija, nakon čega se kao konjugirani spojevi izlučuju urinom [64]. Wittassek i Angerer (2008) proučavali su istraživanja metabolizma ftalata i uočili da nakon oralne primjene di(2-etilheksil) ftalata (DEHP), diisononil ftalata (DiNP) i di(2-propilheptil) ftalata (DPHP), oko 74, 44 i 34% urinom eliminira iz organizma. S druge strane, kratkolančani ftalat čine glavninu metabolita u organizam unesenih ftalata. Obzirom na koncentraciju pojedinih metabolita ftalata, procjenjuje se da je prosječni

dnevni unos ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dan}$ ) oko 2,7 za DEHP, 2,1 za di-nbutil ftalat, 1,5 za diizobutil ftalat, 0,6 za DiNP i 0,3 za butilbenzil ftalat. Općenito, u djece je uočena veća izloženost u usporedbi s odraslima te se pretpostavlja da imaju učinkovitiji oksidacijski metabolizam ftalata. Za pojedine ftalate utvrđena je i dnevna doza koja se može učinkovito tolerirati, ali je utvrđeno se da učinak pojedinih ftalata pojačava s povećanjem doze. Stoga je kumulativni učinak ftalata pouzdaniji pokazatelj za utvrđivanje ukupne izloženosti i zdravstvenih rizika unosa ftalata [66].

Brojni su dokazi o štetnim učincima ftalata na reproduktivni sustav ljudi i životinja. Koncentracija DEHP-a bez štetnih učinaka na ljude je 4,8 mg/kg, dok je tolerirani dnevni unos 48  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Niskomolekularni ftalati poput DHEP-a mogu akutno nadražiti kožu i sluznicu usne te nosne šupljine. Subkronični i kronični učinci ftalata su vrlo važni za proučavanje. Jedno od istraživanja koje je pokazalo kako ftalati imaju štetan učinak na reproduktivni sustav i na razvoj fetusa je istraživanje koje su proveli Ema i sur. (1995) prateći učinke monobutil ftalata na ženkama štakora. Štakorima je monobutil ftalat davan u dozama od 0, 250, 500 i 650 mg/kg tijekom 7-15 dana trudnoće. Pri višim dozama od 500 i 650 mg/kg uočen je smanjen porast tjelesne mase ženke štakora, značajan porast u učestalosti gubitka po leglu tj. smanjenja broja fetusa i mase fetusa te su uočene malformacije kod više fetusa u usporedbi s kontrolnom grupom koja nije bila podvrgnuta ftalatima [67]. Ema i sur. (1996) proveli su još jedno istraživanje na štakorima davajući im monobenzil ftalat u dozama od 0, 250, 313, 375, 438 i 500 mg/kg od 7. do 15. dana trudnoće. Rezultati su bili gotovo isti kao i za monobutil ftalat. Smanjenje tjelesne mase ženke štakora uočeno je pri dozi od 313 mg/kg, a povećanje učestalosti gubitka po leglu pri dozama od 438 i 500 mg/kg. Dobiveni rezultati sugeriraju da monobenzil ftalat može izazvati ozbiljne posljedice koje uključuju malformaciju skeleta (vratni i prsni kralješci, rebra) te vanjske i unutarnje (bubrezi) malformacije fetusa ukoliko se tijekom trudnoće izlaže velikim koncentracijama ovog spoja [68].

Moore i sur. (2001) bavili su se prenatalnom i laktacijskom izloženošću DEHP-a te njegovim utjecajem na razvoj reproduktivnog sustava kod mužjaka štakora. Štakori su oralno primali kukuruzno ulje i DEHP u dozama od 0, 375, 750 i 1500 mg/kg dnevno. Rezultati su pokazali da je DEHP uzrokovao težu toksičnost muškog reproduktivnog sustava u pet od osam legala pri 375 mg/kg dnevno, sedam od osam legala pri 750 mg/kg dnevno i pet od pet legala pri 1500 mg/kg dnevno. Utvrđeno je da DEHP ima različite učinke na reproduktivni sustav poput: smanjenja mase testisa, epidemisa, prednje prostate i sjemenih mjehurića, zadržavanje areola i bradavica te nespuštanja testisa. Ovim istraživanjem dokazano je da je muški reproduktivni sustav osjetljiviji na DEHP u ranijoj fazi razvoja nego što u adolescentskoj ili odrasloj dobi [69].

Učinci ftalata na ljude do danas nisu dovoljno dobro razjašnjeni zbog vrlo malog broja studija provednih na ljudima. Colon i sur. (2000) ispitivali su prijevremeni razvoj dojki (telarha) kod portorikanskih djevojčica. Proučavali su razinu pesticida i ftalat estera u krvnom serumu. Analizirano je 41 uzoraka krvnih seruma djevojčica koje su imale ovaj zdravstveni problem i 35 kontrolnih uzoraka, a za analizu su se koristile plinska kromatografija i masena spektrometrija. Pesticidi nisu otkriveni u uzorcima, ali su zato otkrivene značajne koncentracije ftalata i njegovih metabolita u 68 % uzoraka seruma djevojčica koje su imale telarhu. Autori su zaključili da je moguć štetan utjecaj ftalata na ženski reproduktivni sustav [70]

Grindler i sur. (2018) dokazali su da je DEHP značajno povezan s inzulinskom rezistencijom, višim krvnim tlakom te problemima u reproduktivnom sustavu koji uključuju ranu menopauzu, gubitak trudnoće i prijevremeni porod. Ispitivane su žene koje su bile podvrgnute prekidu trudnoće, a ispitivanje se provodilo od lipnja 2015. do ožujka 2016. Sakupljeni su uzorci urina majki i tkivo resica posteljica. Uzorci urina analizirani su pomoću ekstrakcije čvrste faze u kombinaciji s masenom spektrometrijom visokoučinkovite tekućinske kromatografije i razrjeđivanja izotopa (engl. *high performance liquid chromatography-isotope dilution tandem mass spectrometry*). Utvrđeno je da izloženost ftalatima može biti povezana s promjenom metilacije DNA u prvom tromjesečju trudnoće te da utječu na posteljicu modulirajući ekspresiju ključnih gena kroz epigenetsku regulaciju [71].

Kada je riječ o učincima ftalata na djecu, postoje jasni dokazi da ftalati utječu na povećanje rizika od alergija i astme te da utječu na neurološki razvoj djece što za posljedicu ima utjecaj na manjak pažnje i hiperaktivnost. Ftalati negativno utječu na razinu reproduktivnih hormona i funkciju štitnjače, a ovi zdravstveni problemi upućuju na što hitnije provođenje dodatnih epidemioloških studija u svrhu prevencije i zaštite [72]. Utjecaj ftalata na dječji organizam prikazana je u Tablici 2.

**Tablica 2.** Utjecaj ftalata na endokrini, dišni i živčani sustav djece [64].

<b>SUSTAV</b>	<b>UTJECAJ NA ZDRAVLJE</b>
<b>Endokrini sustav</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Visina i masa</li><li>• Dijabetes tip 2 i inzulinska rezistencija</li><li>• Rad štitnjače</li><li>• Povišen krvni tlak</li><li>• Preuranjeni pubertet</li><li>• Dječaci: razvoj genitalija i kvaliteta sjemena</li><li>• Djevojčice: ishodi trudnoće u odrasloj dobi</li></ul>
<b>Dišni sustav</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Alergije</li><li>• Astma</li></ul>
<b>Živčani sustav</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Odgođen neurorazvoj</li></ul>

## 2.2. Sindrom policističnih jajnika

Sindrom policističnih jajnika, PCOS (engl. *Polysystic ovary syndrome*) jedan je od najčešćih endokrinih poremećaja žena u predmenopauzi, a prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji, WHO (engl. *World Health Organization*) pogađa 8-13 % žena reproduktivne dobi. Prema Šimuniću i sur. (2012) od PCOS-a boluje svaka 13. do 15. žena, što znači otprilike 105 milijuna žena na svijetu [31]. Prvi su ga opisali Stein i Leventhal 1935. godine, a 80-ih godina prošlog stoljeća postao je i zanimanje svjetske medicine [31]. Jedan je od najčešćih razloga ženske neplodnosti, a definicija mu je promijenjena 2003. godine te se sada definira kao heterogena skupina s različitim fenotipovima [73]. Samo ime sugerira na ciste koje su moguće na jajniku, no ne mora biti uvijek slučaj i vrlo često ne dolazi do pojave cista ili drugih simptoma, pa čak 70 % žena ne zna da ima taj problem [74]. Ovaj sindrom pojavljuje se nakon puberteta i ne nestaje već simptomi mogu postati blaži nakon stupanja u menopauzu.

PCOS se dijeli na nekoliko tipova ovisno o simptomima i razini hormona. Četiri glavna tipa PCOS-a su: nehiperandrogeni PCOS ili tip D, ovulacijski PCOS (tip C), fenotip B i fenotip A. Karakteristike tipa D su da žene imaju probleme s ovulacijom (neredoviti periodi ili potpuni izostanak), ali razina hormona androgena je normalna. Tip C, ovulacijski PCOS karakteriziraju povećana razina hormona androgena uz pojavu cista na jajnicima. Tip B uključuje visoke razine androgena uz probleme s ovulacijom, a tip A objedinjuje sve tipove i karakteriziraju ga visoka razina hormona androgena, problemi s ovulacijom te ciste. Najčešći fenotip je fenotip A, a najrjeđe se pojavljuje tip D kod kojega se ne primjenjuje terapija. Osim tipova koji su povezani s razinom hormona androgena, postoje i tipovi koji su povezani sa simptomima. Tako se prema simptomima PCOS dijeli na četiri tipa, a to su: inzulin-rezidentni PCOS, upalni PCOS, PCOS sa skrivenim simptomima i PCOS uzrokovan lijekovima [74].

Četiri glavna uzroka fiziološke osnove PCOS-a uključuju: poremećaje u sintezi gonadotropnih hormona, pojavu inzulinske rezistencije, utjecaj prekomjerne tjelesne mase i metaboličke puteve ključne u PCOS-u, a to su sekrecija i aktivnost inzulina i kodiranje za steroidogenezu [73]. Za normalno funkcioniranje mehanizama odgovornih za sazrijevanje jajničkog folikula i njegovu ovulaciju ovisi o pravilnoj fiziološkoj aktivnosti tri glavna organa: hipotalamusa, hipofize i jajnika. u jezgri hipotalamusa nalaze se neuroni koji sintetiziraju gonadotropin-oslobađajući hormon, GnRH (engl. *gonadotropin-releasing hormone*), a on regulira mrežu međusobno povezanih neurona. Gonadoliberin je hormon čiji ritam određuje vrstu oslobođenog gonadotropina, pa tako niska frekvencija impulsa dovodi do lučenja foliklostimulirajućeg hormona, FSH (engl. *folliclestimulating hormone*), a visoka frekvencija

lučenjem luteinizirajućeg hormona, LH (engl. *luteinizing hormone*). FSH stimulira sazrijevanje folikula jajnika i izlučivanje estrogena u granuloznim stanicama folikula jajnika, dok s druge strane LH je odgovoran za luteinizaciju žutog tijela tj. transformaciju granuloznih stanica koje proizvode progesteron. Kada se koncentracija LH poveća u odnosu na FSH dolazi do prekomjerne proizvodnje androgena što je vrlo čest problem kod žena s PCOS-om [73]. Kao rezultat povećane stimulacije LH dolazi do nakupljanja folikularne tekućine koja formira cistične strukture na periferiji jajnika, a do toga dolazi zato što brojni folikuli u teka stanicama jajnika postaju zaustavljeni u preantralnim i antralnim fazama [75].

Inzulin je glavni hormon koji je odgovoran za lipogenezu i homeostazu glukoze, a pojačava i hormone u steroidogenim tkivima kao što su jajnici i nadbubrežna kora tako što povećava steroidogenezu. Inzulin imitira djelovanje LH i neizravno povećava GnRH što uzrokuje prekomjernu proizvodnju androgena. Djelovanjem inzulina smanjuje se i djelovanje globulina koji veže spolne hormone i regulira razinu testosterona. Niže razine globulina dovode do viših razina androgena koji posljedično uzrokuju kliničke simptome PCOS-a [75]. Nekoliko autora (Dingo i sur. (2021) te Marshall i sur. (2012)) navode kako smanjenje inzulinske rezistencije dovodi do smanjenja razine androgena i poboljšanja stanja bolesti [76,77].

### 2.2.1. Etiologija bolesti

Još uvijek nije razjašnjena etiologija nastanka PCOS-a, ali se sindrom najviše povezuje s hormonima koji su u disbalansu. Sve više dokaza pokazuje kako disregulacija sinteze androgena u teka stanicama jajnika ima vrlo bitnu ulogu u patogenezi PCOS-a. Teku stanice policističnih jajnika zadržavaju aktivnost enzima odgovornih za stvaranje androgena što znači da nije uvjetovano vanjskim faktorima poput povećane stimulacije s LH tj. hiperinzulinemijom [31]. Za razliku od zdravih jajnika, policistični jajnici sadrže triputa veći broj antralnih folikula koji prestaju rasti kada dosegnu veličinu od 4-7 mm, zbog čega izostaje selekcija dominantnog folikula, ovulacija i stvaranje progesterona [31].

Djevojčice koje prerano stupaju u pubertet imaju povećan rizik od nastajanja PCOS-a. Također djeca koja se rode s niskom porođajnom masom imaju utvrđenu povezanost s inzulinskom rezistencijom koja može pridonijeti nastanku PCOS-a [31].

Šimunović i sur. (2012) navode kako vrlo veliku ulogu igraju kako genetske predispozicije tako i stil života te hrana [31], a Singh i sur. (2023) kako je sve više istraživanja usmjereno na utvrđivanje uzroka nastanka PCOS-a, a najviše su to okolišni zagađivači kao što su teški metali, insekticidi i endokrini disruptori iz okoliša [75].

### 2.2.2. Simptomi i liječenje sindroma policističnih jajnika

PCOS karakteriziraju neredoviti ciklusi koji uključuju potpuni ili periodični izostanak menstruacije, vrlo bolni ciklusi i krvarenje bez ovulacije. Osim toga, simptomi mogu biti i neplodnost, povećana dlakavost ili alopecija, akne, masna koža, problemi s masom i otežano mršavljenje, hiperpigmentacija i česte promjene raspoloženja (Slika 9.) [78]. Ponekad PCOS ne pokazuje simptome ili su oni toliko blagi da su neprimjetni, pa mnoge žene ne znaju da boluju od PCOS-a [31]. Budući da PCOS može dovesti do ozbiljnijih problema, poput nemogućnosti začeća ili problema u trudnoći, inzulinske rezistencije, dijabetesa, depresije ili anksioznosti [6], poželjno je PCOS na vrijeme dijagnosticirati i liječiti na pravilan način.



**Slika 9.** Simptomi PCOS-a (preuzeto iz [79])

Liječenje PCOS-a ovisi o dobi, simptomima i reproduktivskim željama [31]. Uz simptomatsko liječenje, potrebno je prilagoditi prehranu i način života. Iako se PCOS ne može potpuno izliječiti mogu se ublažiti simptomi korištenjem kontracepcijskih pilula, smanjenjem tjelesne mase ukoliko je jedan od problema i pretilost, a ukoliko žena koja boluje od PCOS-a pokušava zatrudnjati liječnici uglavnom prepisuju određene tablete poput npr. klomifena [80].



## 2.3. Povezanost endokrinih disruptora i sindroma policističnih jajnika

Posljednjih godina, sve se više istražuje utjecaj prirodnih i sintetskih spojeva na nastanak PCOS-a, a glavni fokus je na sintetskim endokrinim disruptorima iako uzročnici mogu biti i prirodni spojevi. Endokrini disruptori djeluju tako da mogu oponašati endogene hormone i ometati njihovu proizvodnju, transport i metabolizam. Prvenstveno se smatralo da endokrini disruptori djeluju tako što ometaju vezanje hormona na klasične nuklearne receptore, no kasnije je utvrđeno da ima više načina djelovanja koji na više načina mogu utjecati na organizam, a jedan od njih je nastanak PCOS-a [11].

### 2.3.1. Utjecaj bisfenola A na nastanak sindrom policističnih jajnika

BPA jedan je od najčešće proučavanih endokrinih disruptora kada je u pitanju PCOS. Istraživanja koja su provedena, a spominju se u nastavku, kako bi se vidio utjecaj BPA na PCOS fokusirana su na djelovanje BPA na estrogenske receptore, na promjene u steroidogenezi, upalna stanja uzrokovana BPA, inzulinsku rezistenciju i povezanost s pretilošću [81].

Hewlett i sur. (2016) su utvrdili da je koncentracija BPA u serumu žena kod kojih je dijagnosticiran PCOS znatno veća u usporedbi sa ženama bez PCOS-a. Koncentracije BPA kod žena s PCOS-om kretale su se oko  $1,05 \pm 0,56$  ng/mL u odnosu na koncentraciju kod žena bez PCOS-a,  $0,72 \pm 0,37$  ng/mL. Srednja koncentracija serumskog BPA kod žena s PCOS-om je  $0,7$  ng/mL, dok je normalna koncentracija oko  $0,1$  ng/mL [82]. Uzimajući kontrolnu skupinu i žene koje boluju od PCOS-a, Tarantino i sur. (2013) proveli su istraživanje u kojem su izvijestili o pozitivnoj korelaciji između razine prisutnog BPA i inzulinske rezistencije. Utvrdili su da je koncentracija BPA u žena koje imaju inzulinsku rezistenciju i PCOS  $1,39 \pm 1,35$  ng/mL naspram  $0,57 \pm 1,11$  ng/mL u kontrolnoj skupini [83]. Ovim dvjema studijama pokazalo se da inzulinska rezistencija prevladava među slučajevima koji boluju od PCOS-a.

Mukhopadhyay i sur. (2022) dali su pregled provedenih istraživanja na ovu temu te pokušali objasniti utjecaj BPA na nastanak PCOS-a fokusirajući se na gensku ekspresiju, disregulaciju gonadotropina, steroidogenezu i hiperandrogenizam te na hormonske promjene koje su prouzrokovane zbog BPA. Menstrualni ciklus reguliran je interakcijom hormona koje oslobađaju hipotalamus, hipofiza i jajnici. LH i FSH djeluju na folikule jajnika kako bi oslobodili estrogen i progesteron, a jedan od tri glavna estrogena je i estradiol koji regulira oslobađanje LH i GnRH negativnom povratnom spregom. BPA ima sposobnost oponašanja

djelovanja estradiola pa se tako može vezati na estrogenski receptor i poremetiti funkcioniranje hipotalamusa i hipofize [84].

Warita i sur. (2013) procijenili su učinke BPA, ovisno o dozi, na embrionalne mišje hipotalamičke stanice. Utvrdili su da je nakon 3 sata izlaganja došlo do smanjenja ekspresije GnRH kod doze od 200  $\mu\text{M}$  uspoređujući s kontrolnom skupinom koja nije bila podvrgnuta utjecaju BPA. Pri nižim dozama od 0,02 do 20  $\mu\text{M}$  nisu uočene značajne razlike što dovodi do zaključka da ekspresija gena GnRH nije pod utjecajem BPA manjim od 20  $\mu\text{M}$ , ali štetni učinci koji su inducirani smanjenjem mRNA liganada nastaju pri višim dozama [85]. U Tablici 3 prikazan je popis ciljnih molekula na koje najčešće djeluje BPA, a koje su važne za ženski reproduktivni sustav.

Ovarijska steroidogeneza je rezultat interakcije između LH i FSH te enzima poput aromataze. Izloženost BPA uzrokuje disregulaciju ekspresije gena i utječe na funkcije jajnika, a povećana ekspresija gena kod visoke doze izloženosti BPA povezana je s izmijenom ekspresije gena koji kodiraju enzime uključene u konverziju androgena u estradiol [83]. Zhou i sur. (2008) proveli su istraživanje na štakorima tretirajući ih različitim dozama BPA. Rezultati tog istraživanja pokazali su da se kod doze od  $10^{-4}$  M BPA povećava ekspresija gena koji mogu potaknuti veću proizvodnju progesterona, a u kombinaciji s povećanjem ekspresije pri dozi od  $10^{-5}$  M dolazi i do povećane proizvodnje androgena [86]. Mukhopadhyay i sur. (2022) navode kako izloženost BPA povećava i ekspresiju gena koji kodiraju nuklearne receptore poput estrogen-srodnog receptora- $\gamma$  što dovodi do zaključka da BPA može djelovati na promjenu u ekspresiji steroidogenih enzima u jajniku [84].

Učinak BPA na ekspresiju Anti-Müllerovog hormona, AMH (engl. *Anti-Müllerian Hormone*), ovisi o fazi razvoja, pa se tako npr. u predpubertetskom razdoblju povećava razina AMH što može dovesti do poremećaja u razvoju folikula. Naime, prema Li i sur. (2014) izloženost BPA povećava razine AMH što za posljedicu ima povećanje broja malih antralnih folikula u usporedbi s ukupnim brojem folikula koji su prisutni u jajniku. Povećanje broja antralnih folikula može dovesti do smanjenja osjetljivosti na FSH što dovodi do narušavanja rasta folikula [87]. Cao i sur. (2018) navode kako izloženost niskim dozama BPA dovodi do smanjene ekspresije AMH što se pripisuje učinku BPA na smanjenje granulosa stanica i njihovu ubranu apoptozu [88].

**Tablica 3.** Prikaz spojeva na koje najčešće cilja BPA i njihova uloga [84].

<b>META (gen za)</b>	<b>ULOGA GENA</b>
<b>Kispeptin</b>	Kodira protein hipotalamičkog kispeptina koji je uključen u regulaciju pubertetskog razvoja i negativnu povratnu spregu gonadotropina
<b>Gonadotropin oslobađajući hormon 1 i 2</b>	Kodira preprotein koji stvara peptide koji stimuliraju lučenje gonadotropina i hormona za stimulaciju folikula
<b>Rezistin</b>	Kodira hormon dobiven iz masnog tkiva koji sudjeluje u upalnom odgovoru
<b>Adiponektin</b>	Kodira proteinski hormon uključen u regulaciju glukoze i razgradnju masnih kiselina
<b>Leptin</b>	Kodira hormon koji je dobiven iz masnog tkiva, a regulira apetit i skladištenje masti u adipocitima
<b>Interleukin 6</b>	Kodira interleukin koji može biti proupalni citokin i imati protuupalno djelovanje u mišićima
<b>Estrogen receptor 1</b>	Kodira estrogenski receptor aktiviran estradiolom koji pokreće proliferaciju stanica u reproduktivnim tkivima
<b>Estrogen receptor 2</b>	Kodira estrogenski receptor aktiviran estrogenom koji može inhibirati proliferaciju stanica u reproduktivnim tkivima
<b>Luteinizirajući hormon</b>	Kodira protein receptor luteinizirajućeg hormona
<b>Inzulin</b>	Kodira hormon inzulin koji regulira metabolizam ugljikohidrata i potiče apsorpciju glukoze u jetri, adipocitima i stanicama skeletnih mišića
<b>Folikulostimulirajući hormon</b>	Kodira transmembranski receptor koji je u interakciji s FSH
<b>Hidroksisteroid 17-<math>\beta</math>-dehidrogenaza</b>	Regulira razine spolnih steroida smanjenjem C-17 hidroksi skupine androgena i estrogena

Mustieles i sur. (2019) su procijenili vezu između izloženosti BPA i pretilosti kod dječaka. Proučavana skupina bili su dječaci iz Španjolske u dobi od 9 do 11 godina, a koncentraciju BPA mjerili su u uzorcima urina. Prema rezultatima koje su dobili svaka povećana koncentracija BPA u urinu pokazivala je i viši BMI rezultat te povećan rizik za prekomjernu masu. Autori su zaključili da izloženost BPA potencijalno može povećati rizik od pretilosti, no ove rezultate je potrebno uzeti s oprezom s obzirom na mali broj proučavanih ispitanika te različit način života i prehranu [89]. Masno tkivo smatra se jednim od endokrinih organa. Endokrini disruptori, a u ovom slučaju BPA stimulira adipogenezu i pretilost putem povećanja broja i veličine adipocita, mijenjanja metabolizma i hormona koji reguliraju apetit [81]. Endokrini disruptori koji stimuliraju adipogenezu i pretilost nazivaju se obesogeni [25]. Muscogiuri i sur. (2017) bavili su se utjecajem obesogena na pretilost. Navode kako životno razdoblje izloženosti utječe na različite učinke, a kritično razdoblje je tijekom neonatalnog perioda u kojem obesogeni mogu uzrokovati manje promjene u ekspresiji gena i organizaciji tkiva, ometati druge biološke organizacije te dovesti do povećane osjetljivosti na bolesti u odrasloj dobi. Povećana preosjetljivost može nastupiti zbog nedostataka zaštitnih mehanizama koji su prisutni u odrasloj dobi, kao što su mehanizmi popravka DNA, kompetentan imunološki sustav, enzimi za detoksifikaciju, jetreni metabolizam i krvno-moždana barijera, koji u fetusa ili novorođenčeta nisu u potpunosti funkcionalni. Djelovanje obesogena temelji se na povećanju broja i veličine adipocita, promjeni apetita i sitosti. Obesogeni imaju sposobnost povećavanja taloženja masti i njihovog nakupljanja u tijelu, što za posljedicu ima povećanje tjelesne mase i pretilost [90].

Gao i sur. (2016) izlaganjem štakora BPA tijekom trudnoće i dojenja pokazali su kako perinatalna izloženost BPA utječe na lipide. Štakori su bili podvrgnuti BPA u koncentraciji od 1 ili 10  $\mu\text{g/mL}$ , dok su potomci štakora dobivali normalnu vodu i hranu. Rezultati su pokazali da povećana serumska koncentracija BPA može izazvati povećanje koncentracije kolesterola, triglicerida i lipoproteina niske gustoće, LDL (engl. *low-density lipoprotein*), a smanjenje koncentracije lipoproteina visoke gustoće, HDL (engl. *high-density lipoprotein*) što uzrokuje aterogenu dislipidemiju [91]. Dislipidemija je bolest kod koje dolazi do povišenja kolesterola i triglicerida i smanjenja HDL-a, a posljedično tome dolazi do nastanka ateroskleroze [92]. Značajno su se smanjile razine mRNA jetrene masne trigliceridne lipaze i ADP proteina što je dovelo do pretilosti i dislipidemije [91].

### 2.3.2. Utjecaj ftalata, parabena i triklosana na nastanak sindrom policističnih jajnika

Posljednjih godina sve više pažnje posvećuje se istraživanju ostalih endokrinih disruptora koji utječu na nastanak PCOS-a. Milankov i sur. (2023) odradili su ispitivanja na 60 žena u reproduktivnoj dobi kojima je utvrđen PCOS. Napravili su biokemijska mjerenja razina desetak ftalata u jutarnjem urinu i utvrdili da je barem jedan metabolit ftalata pronađen u 51,7 % uzoraka, a da je ukupna koncentracija ftalata pozitivno povezana s opsegom i omjerom struka, razinom leptina u serumu, produktom nakupljanja lipida, te s glukozom u plazmi. Utvrdili su i da je ukupna razina kolesterola značajno viša u žena kod kojih su pronađeni metaboliti ftalata te da je zbroj svih ftalata u korelaciji s razinom LDL-a i triglicerida [93].

Akin i sur. (2020) fokusirali su se na utjecaj MEHP-a i DEHP-a na nastanak PCOS-a. Istraživanje su proveli na 124 adolescentice (13-19 godina) od kojih je kod 63 utvrđen PCOS, a 61 je činilo kontrolnu skupinu. Razine MEHP-a i DEHP-a u serumu određene su pomoću tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti. Osim razine MEHP-a i DEHP-a, procijenili su i utjecaj inzulinske rezistencije. Srednje vrijednosti dobivenih rezultata bile su 2,62 µg/mL kod adolescentica s PCOS-om naspram 2,71 µg/mL u kontrolnoj skupini što je pokazivalo da nema značajnije razlike u razinama. Korelacijskom analizom utvrdili su da oba ftalata koreliraju s indeksom inzulinske rezistencije i serumskim trigliceridima u adolescentica koje boluju od PCOS-a. Autori su zaključili da je razina ftalata uveliko povezana s inzulinskom rezistencijom koja može biti jedan od bitnih faktora u nastanku PCOS-a. Korelacije između DEHP-a i inzulinske rezistencije sugeriraju da bi ftalati mogli imati značajan učinak na energetske metabolizam u ispitanoj skupini [65].

Al-Saleh (2022) je proučavao korelaciju između metabolita ftalata i PCOS-a kod žena koje su bile podvrgnute *in vitro* oplodnji. Izmjerio je razinu osam metabolita ftalata u uzorcima 599 žena u razdoblju od 2015. do 2017. godine. Rezultati su pokazali da je razina većine metabolita ftalata bila nekoliko puta veća u ispitanim uzorcima naspram kontrolne skupine. Omjer LH i FSH bio je značajno viši kod žena s PCOS-om, no nije do kraja razjašnjena njegova povezanost s razinom ftalata. Dobiveni rezultati sugeriraju da bi DEHP mogao imati značajnu ulogu u patogenezi PCOS-a, ali je potrebno provesti dodatna ispitivanja kako bi se točno odredilo postoji li korelacija između razine ftalata i omjera LH/FSH koji je standardni klinički pokazatelj PCOS-a [94].

Nisihama i sur. (2016) ispitali su utjecaj koncentracije parabena u urinu na duljinu trajanja menstrualnog ciklusa. U razdoblju od 5 mjeseci pratili su duljinu trajanja menstrualnog ciklusa i njegove varijacije te koncentracije parabena u uzorcima urina 128 studentica. Istraživanje je

pokazalo da izloženost parabenima može dovesti do skraćanja duljine menstrualnog ciklusa, što posljedično može biti jedan od problema neplodnosti koji se sve češće javlja kod mladih žena. Mehanizam uočenog odnosa između duljine menstrualnog ciklusa i izloženosti parabenima nije razjašnjen te su autori pretpostavili da bi utjecaj mogle imati i druge potencijalne kovarijable, poput stresa [95].

Vagi i sur. (2014) odradili su mjerenja parabena u serumu i urinu 52 pacijentice s PCOS-om i 50 pacijentica koje su bile kontrolna skupina. Pronađene su manje koncentracije monobenzil ftalata u urinu (7,5 µg/g naspram 11,7 µg/g u kontrolnoj skupini), a pacijentice s PCOS-om imale su i značajne više geometrijske srednje serumske koncentracije (4,1 µg/L naspram 2,3 µg/L). Zaključili su kako bi ovi rezultati mogli imati ulogu u patogenezi PCOS-a, no za preciznije objašnjenje navode kako je potrebno provesti dodatna istraživanja [96].

Triklosan kao endorkini disruptor također nije previše istraživani i potrebno je provesti više studija kako bi se odredio točan utjecaj triklosana na PCOS, no rezultati istraživanja koje su proveli Jiangfeng i sur. (2017) dokazali su da je koncentracija triklosana kod žena s PCOS-om značajno viša uspoređujući koncentraciju kod žena koje ne boluju od PCOS-a (1,49 µg/g naspram 1,06 µg/g). U razdoblju od 2014. do 2015. analizirano je 674 uzoraka urina neplodnih žena u dobi od 18 do 45 godina. Koncentracija TCS-a mjerena je pomoću masene spektrometrije tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti i elektrosprej ionizacije. Rezultati su također pokazali pozitivan odnos između razine TCS-a i omjer LH i LH/FSH, naime dokazalo se da LH postupno raste s povišenjem TCS-a što sugerira na povećanje LH u odnosu na FSH (što je jedan od kliničkih pokazatelja PCOS-a). Uspoređujući razine TCS-a kod žena s PCOS-om u Europi, SAD-u i Kini, utvrđena je puno viša razina TCS-a u žena s PCOS-om u Europi i SAD-u nego u Kini što može biti posljedica češćeg korištenja kozmetičkih proizvoda koje sadrže TCS u Europi i SAD-u [97].

### 2.3.3. Utjecaj fitoestrogena na nastanak sindroma policističnih jajnika

Khani i sur. (2011) bavili su se ispitivanjem utjecaja fitoestrogena na nastanak PCOS-a. 146 ispitanika podijelili su u dvije skupine, eksperimentalnu skupinu koja je primala 18 mg genisteina dva puta dnevno oralno i kontrolna skupina koja je primala placebo s celulozom tijekom 3 mjeseca. Prije i nakon terapije suplementima mjereni su lipidni profili i hormonalne karakteristike ispitanika. Nakon 3 mjeseca terapije rezultati su pokazali da nije bilo značajnih razlika u serumskim razinama HDL-a i FSH prije i nakon primanja terapije. S druge strane razine LH, triglicerida i kolesterola bile su značajno smanjene u skupini koja je oralno primala

18 mg terapije dnevno. Autori su utvrdili da konzumacija genisteina kao terapije može spriječiti kardiovaskularne i metaboličke poremećaje kod pacijentica s PCOS-om te poboljšati njihovu hormonalnu sliku i lipidni profil [98].

Mazhar i sur. (2020) su ispitali učinak različitih razina izoflavona iz soje na unos hranjivih tvari, lipidni profil, probavljivost, inzulin i reproduktivne hormone PCOS induciranog modela štakora. 36 štakora starih 45 dana podijelili su u 4 skupine: kontrolna skupina (bez unosa), skupina s unosom od 0,10 g/kg, skupina s unosom 0,15 g/kg i skupina s unosom 0,20 g/kg. Unos je bilježen svakodnevno dok je masa štakora bilježena na tjednoj bazi. Tijekom zadnjeg tjedna ispitivanja uzeti su uzorci krvi i izmeta kako bi se procijenila probavljivost unesenih hranjivih tvari. Značajni rezultati utvrđeni su u štakorima koji su bili tretirani izoflavonima za razliku od kontrolne skupine. Estrogen, progesteron i prolaktin bili su značajno visoki kod štakora koji su bili podvrgnuti izoflavonima. Inzulin, testosteron, FSH i LH bili su najniži kod štakora koji su podvrgnuti najvišoj dozi. Kod štakora koji su dobivali 0,15 i 0,20 g/kg doze uočeno je značajno smanjenje kolesterola, dok je s druge strane serumski HDL poboljšán kod svih podvrgnutih ispitanika. Značajno smanjenje triglicerida primijećeno je kod štakora koji su dobivali najvišu dozu, no s druge strane razina triglicerida se smanjila kod štakora koji su podvrgnuti manjoj dozi. Proučavanjem dobivenih rezultata zaključili su da sojini izoflavoni mogu imati važnu ulogu u razini reproduktivnih hormona, masi te lipidnom profilu štakora [99].

Gayathri i sur. (2021) bavili su se nutritivnim sastavom suplemenata bogatih fitoestrogenima za žene s PCOS-om. Pripremili su dodatak prehrani koji je sadržavao sjemenke lana, piskavice i biljke *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. kako bi vidjeli kakav utjecaj imaju na PCOS. Prikupljanje podataka i analiza provodila se u sedam koraka: prikupljanje materijala, standardizacija suplemenata, formulacija suplemenata, procjena suplemenata pomoću članova komisije i pomoću potrošača te procjena roka trajanja i nutritivnih vrijednosti. Glavni cilj bio je pripremiti dodatak prehrani koji je obogaćen fitoestrogenima za liječenje PCOS-a. Polifenoli i flavonoidi analizirani su plinskom kromatografijom-masenom spektrometrijom te HPLC-om. Autori su zaključili da fitoestrogeni prisutni u napravljenom suplementu (polifenoli i flavonoidi) reguliraju menstrualne nepravilnosti, stimuliraju lučenje inzulina te smanjuju razine glukoze u krvi te se mogu koristiti u liječenju menstrualnih disfunkcija. Zbog željeza i selena koji se nalaze u fitoestrogenima ovakvi se suplementi mogu koristiti za liječenje anemije, menstrualnih nepravilnosti i oksidacijskog stresa, a sjemenke biljke *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. široko se koriste u tradicionalnoj medicini za liječenje PCOS-a [100].

### 3. ZAKLJUČAK

Endokrini disruptori su tvari iz okoliša čije vrlo male koncentracije u organizmu mogu ostaviti štetne posljedice te utjecati na nastanak sindroma policističnih jajnika. Točna etiologija PCOS-a nije još uvijek poznata pa se medicinska istraživanja još uvijek fokusiraju na otkrivanje točnih uzročnika. Endokrini disruptori ulaskom u organizam mogu se vezati na receptore i poremetiti rad te metabolizam hormona koji posljedično uzrokuju sindrom policističnih jajnika. Najviše istraživanja fokusira se na bisfenol A, koji je najproučavaniji endokrini disruptor. Istraživanjima je dokazano da se bisfenol A veže na estrogenske receptore, uzrokuje upalne procese u organizmu te je povezan s inzulinskom rezistencijom i pretilosti. Povećana serumska koncentracija bisfenola A pronađena je kod žena s PCOS-om, a to može dovesti i do poremećaja u lipidima koji posljedično uzrokuju aterogenu dislipidemiju. Iako nije provedeno mnogo istraživanja o utjecaju parabena, triklosana i ftalata na PCOS, istraživanja koja su provedena pokazala su da postoji poveznica poput skraćenog menstrualnog ciklusa kod žena s PCOS-om koje su izložene parabenima ili pak povezanosti s inzulinskom rezistencijom kod povećane koncentracije DEHP-a. Izloženost parabenima najveća je putem kozmetičkih proizvoda, poput dezodoransa, čijim su istraživanjima znanstvenici došli do zaključaka da je moguća povezanost sa sve češćom pojavom raka dojke. Istraživanja koja su se fokusirala na utjecaj triklosana na zdravlje pokazala su kako su najviše koncentracije pronađene u urinu tj. tjelesnim tekućinama. Izloženost triklosanu može štetno djelovati na metabolizam lipida, reproduktivni sustav muškaraca i žena te ima kancerogeni potencijal. Ftalati mogu nadražiti sluznicu te usnu šupljinu, utjecati na reproduktivni sustav s više učinaka te utjecati na razvoj fetusa. Osim sintetskih endokrinih disruptora postoje i oni prirodni kao što su fitoestrogeni. Fitoestrogeni se vežu na estrogenske receptore te ometaju enzime potrebne za biosintezu steroida. Mogu utjecati i na plodnost te promjenu spermatogeneze kod muških potomaka majke koje su bile izložene utjecaju fitoestrogena.

Iako broj istraživanja o endokrinim disruptorima raste, još uvijek se ne može sa sigurnošću reći kako oni točno utječu na nastanak PCOS-a te su daljnja istraživanja i edukacija o ovoj temi neophodna kako bi se na vrijeme mogli spriječiti štetni učinci koje oni ostavljaju na zdravlje.



#### 4. POPIS LITERATURE

1. National Institute of Environmental Health Sciences. URL: <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/endocrine> (16. 6. 2024.)
2. T. Srnovršnik, I. Virant-Klun, B. Pinter, Polycystic Ovary Syndrome and Endocrine Disruptors (Bisphenols, Parabens, and Triclosan). *Life* **2023**, *13*, 1-7.
3. A. Beatrice, R. Raphael, Endocrine Disruptor Chemicals (Eds.: K. R. Feingold, B. Anawalt, M. R. Blackman), Endotext, South Dartmouth, **2000**
4. Endocrine Disrupting Chemicals Present Human and Environmental Health Risks, 2022. URL: <https://www.caymanchem.com/news/endocrine-disrupting-chemicals-present-human-and-environmental-health-risks> (27. 6. 2024.)
5. T. Mandić, Utjecaj endokrinih disruptora na reproduktivno zdravlje žena, Diplomski rad, **2016**. URL: <https://repozitorij.mef.unizg.hr/islandora/object/mef%3A1282/datastream/PDF/view> (16. 6. 2024.)
6. A. C. Gore, D. Crews, L. L. Doan, M. La Merrill, H. Patisaul, A. Zota, Introduction to endocrine disrupting chemicals (EDCs), 2014, URL: <https://www.endocrine.org/-/media/endsociety/files/advocacy-and-outreach/important-documents/introduction-to-endocrine-disrupting-chemicals.pdf> (27. 6. 2024.)
7. A. Domanska, A. Orzechowski, A. Litwiniuk, M. Kalisz, W. Bik, A. Baranowska-Bik, The Beneficial Role of Natural Endocrine Disruptors: Phytoestrogens in Alzheimer's Disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2021**, *2021*, 3961445.
8. H. Wang, P. A. Murphy, Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa: effects of variety, crop year, and location. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 1674-1677.
9. R. Meena, C. Supriya, K. Pratap Reddy, P. Sreenivasula Reddy, Altered spermatogenesis, steroidogenesis and suppressed fertility in adult male rats exposed to genistein, a non-steroidal phytoestrogen during embryonic development. *Food Chem. Toxicol.* **2017**, *99*, 70-77.
10. G. I. Russo, M. Di Mauro, F. Regis, G. Reale, D. Campisi, M. Marranzano, A. Lo Giudice, T. Solinas, M. Madonia, S. Cimino, G. Morgia, Association between dietary phytoestrogens intakes and prostate cancer risk in Sicily. *Aging Male* **2018**, *21*, 48-54.
11. E. S. Barrett, M. Sobolewski, Polycystic ovary syndrome: do endocrinedisrupting chemicals play a role?. *Semin Reprod Med.* **2014**, *32*, 166-176.
12. Bisphenol A. URL: <https://www.medchemexpress.com/bisphenol-a.html> (16. 6. 2024.)

13. I. Cimmino, F. Fiory, G. Perruolo, C. Miele, F. Beguinot, P. Formisano, F. Oriente, Potential Mechanisms of Bisphenol A (BPA) Contributing to Human Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 5761.
14. R. Mukhopadhyay, N. B. Prabhu, S. P. Kabekkodu, P. S. Rai, Review on bisphenol A and the risk of polycystic ovary syndrome: an insight from endocrine and gene expression: Gene expression studies. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2022**, *29*, 32631-32650.
15. V. Delfosse, M. Grimaldi, J. L. Pons, A. Boulahtouf, A. le Maire, V. Cavailles, G. Labesse, W. Bourguet, P. Balaguer, Structural and mechanistic insights into bisphenols action provide guidelines for risk assessment and discovery of bisphenol A substitutes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 14930-14935.
16. P. Phrakonkham, S. Viengchareun, C. Belloir, M. Lombès, Y. Artur, M. C. Canivenc-Lavier, Dietary xenoestrogens differentially impair 3T3-L1 preadipocyte differentiation and persistently affect leptin synthesis. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* **2008**, *110*, 95-103.
17. N. Ben-Jonathan, E. R. Hugo, T. D. Brandebourg, Effects on bisphenol A on adipokine release from human adipose tissue: Implications for the metabolic syndrome. *Moll Cell Endocrinol.* **2009**, *304*, 49-54.
18. B. S. Rubin, M. Paranjpe, T. DaFonte, C. Schaeberle, A. M. Soto, M. Obin, A. S. Greenberg, Perinatal BPA exposure alters body weight and composition in a dose specific and sex specific manner: The addition of peripubertal exposure exacerbates adverse effects in female mice. *Reprod Toxicol.* **2017**, *68*, 130-144.
19. A. Ptak, E. L. Gregoraszczyk, Bisphenol A induces leptin receptor expression, creating more binding sites for leptin, and activates the JAK/Stat, MAPK/ERK and PI3K/Akt signalling pathways in human ovarian cancer cell. *Toxicol Lett.* **2012**, *210*, 332-7.
20. H. Song, T. Zhang, P. Yang, M. Li, Y. Yang, Y. Wang, J. Du, K. Pan, K. Zhang, Low doses of bisphenol A stimulate the proliferation of breast cancer cells via ERK1/2/ERR $\gamma$  signals. *Toxicol In Vitro.* **2015**, *30*, 521-8.
21. S. H. Dairkee, M. G. Luciani-Torres, D. H. Moore, W. H. Goodson 3rd. Bisphenol-A-induced inactivation of the p53 axis underlying deregulation of proliferation kinetics, and cell death in non-malignant human breast epithelial cells. *Carcinogenesis.* **2013**, *34*, 703-12.
22. L. Perera, Y. Li, L. A. Coons, R. Houtman, R. Van Beuningen, B. Goodwin, S. S. Auerbach, C. T. Teng, Binding of bisphenol A, bisphenol AF, and bisphenol S on the androgen receptor: Coregulator recruitment and stimulation of potential interaction sites. *Toxicol. In Vitro.* **2017**, *44*, 287302.

23. L. Li, Q. Wang, Y. Zhang, Y. Niu, X. Yao, H. Liu, The molecular mechanism of bisphenol A (BPA) as an endocrine disruptor by interacting with nuclear receptors: Insight from molecular dynamics (MD) stimulations. *PloS One*. **2015**, *10*, 120330.
24. C. M. Revankar, H. D. Mitchell, A. S. Field, R. Burai, C. Corona, C. Ramesh, L. A. Sklar, J. B. Arterburn, E. R. Prossnitz, Synthetic estrogen derivatives demonstrate the functionality of intracellular GPR30. *ACS Chem. Biol.* **2007**, *2*, 536-544.
25. I. Cimmino, F. Oriente, V. D'Esposito, D. Liguoro, P. Liguoro, M. R. Ambrosio, S. Cabaro, F. D'Andrea, F. Beguinot, P. Formisano, Low Dose Bisphenol-A Regulates Inflammatory Cytokines through GPR30 in Mammary Adipose Cells. *J. Mol. Endocrinol.* **2019**, *63*, 273–283.
26. M. Perez-Bermejo, I. Mas-Perez, M. T. Murillo-Llorente, The Role of the Bisphenol A in Diabetes and Obesity. *Biomedicines*. **2021**, *9*, 666.
27. J. F. Ohlstein, A. L. Strong, J. A. McLachlan, J. M. Gimble, M. E. Burow, B. A. Bunnell, Bisphenol A enhances adipogenic differentiation of human adipose stromal/stem cells. *J. Mol. Endocrinol.* **2014**, *53*, 345-353.
28. J. G. Boucher, A. Boudreau, S. Ahmed, E. Atlas, In Vitro Effects of Bisphenol a  $\beta$ -D-Glucuronide (BPA-G) on Adipogenesis in Human and Murine Preadipocytes. *Environ. Health Perspect.* **2015**, *123*, 1287-1293.
29. Human exposure to Bisphenol A in Europe,  
URL: <https://www.eea.europa.eu/publications/peoples-exposure-to-bisphenol-a> (8. 8. 2024.)
30. Z. Petrić, J. Ružić, I. Žuntar, The controversies of parabens – an overview nowadays. *Acta Pharm.* **2021**, *71*, 17-32.
31. V. Šimunović, Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost, Medicinski potpomognuta oplodnja, *Kronične anovulacije – Sindrom policističnih jajnika*, Zagreb, Školska knjiga, **2012**, 275-295.
32. Methylparaben. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methylparaben> (15. 6. 2024.)
33. Ethylparaben. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethylparaben> (15. 6. 2024.)
34. Propylparaben. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Propylparaben> (15. 6. 2024.)
35. Butylparaben. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Butylparaben> (15. 6. 2024.)

36. R. S. Tade, M. P. More, V. K. Chatap, P. K. Deshmukh, P. O. Patil, Safety and toxicity assessment of parabens in pharmaceutical and food products. *Inventi Rapid: Pharmacy Practice* **2018**, 3, 1-9.
37. What are parabens. URL: <https://www.ewg.org/what-are-parabens> (14. 6. 2024.)
38. A. M. Calafat, X. Ye, L.Y. Wong, A. M. Bishop, L. L. Needham, Urinary Concentration of Four Parabens in the U.S. Population: NHANES 2005-2006. *Environ. Health Perspect.* **2010**, 118, 679-685.
39. K. G. Harley, K. Kogut, D. S. Madrigal, M. Cardenas, I. A. Vera, G. Meza-Alfaro, J. She, Q. Gavin, R. Zahedi, A. Bradman, B. Eskenazi, K. L. Parra, Reducing Phthalate, Paraben, and Phenol Exposure from Personal Care Products in Adolescent Girls: Findings from the HERMOSA Intervention Study. *Environ Health Perspect.* **2016**, 124, 1600-1607.
40. M. Y. Shin, C. Shin, J. W. Choi, J. Lee, S. Lee and S. Kim, Pharmacokinetic profile of propyl paraben in humans after oral administration. *Environ. Int.* **2019**, 130, 104917.
41. M. Wan-Li, X. Zhao, Z. Y. Lin, M. O. A. Mohammed, Z. F. Zhang, L. Y. Liu, W. W. Song, Y. F. Li, A survey of parabens in commercial pharmaceuticals from China and its implications for human exposure. *Environ. Int.* **2016**, 95, 30-5.
42. R. T. Engeli, S. R. Rohrer, A. Vuorinen, S. Herdlinger, T. Kaserer, S. Leugger, D. Schuster, A. Odermatt, Interference of paraben compounds with estrogen metabolism by inhibition of 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, 18, 1-13.
43. J. H. Lee, M. Lee, C. Ahn, H. Y. Kang, D. N. Tran, E. B. Jeung, Parabens accelerate ovarian dysfunction in a 4-vinylcyclohexene diepoxide-induced ovarian failure model. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2017**, 14, 161.
44. P. D. Dabre, Underarm cosmetics and breast cancer. *J. Appl. Toxicol.* **2003**, 23, 89-95.
45. A. K. Charles, P. D. Darbre, Combinations of parabens at concentrations measured in human breast tissue can increase proliferation of MCF-7 human breast cancer cells. *J. Appl. Toxicol.* **2013**, 33, 390-398.
46. L. Barr, G. Metaxas, C. A. Harbach, Measurement of paraben concentrations in human breast tissue at serial locations across the breast from axilla to sternum. *J. Appl. Toxicol.* **2012**, 32, 219-232.
47. S. Oishi, Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice. *Arch. Toxicol.* **2002**, 76, 423-429.
48. A. M. Hoberman, D. K. Schreur, T. Leazer, G. P. Daston, P. Carthew, T. Re, L. Loretz and P. Mann, Lack of effect of butylparaben and methylparaben on the reproductive system in male rats, Birth Defects. *Birth Defects Res. B Dev. Reprod. Toxicol.* **2008**, 83, 123-133.

49. S. Kang, S. Kim, J. Park, H. J. Kim, J. Lee, G. Choi, S. Choi, S. Kim, S. Y. Kim, H. B. Moon, S. Kim, Y. L. Kho and K. Choi, Urinary paraben concentrations among pregnant women and their matching newborn infants of Korea, and the association with oxidative stress biomarkers. *Sci. Total Environ.* **2013**, 461–462, 214-221.
50. N. Y. Park, Y. H. Cho, K. Choi, E. H. Lee, Y. J. Kim, J. H. Kim and Y. Kho, Parabens in breast milk and possible sources of exposure among lactating women in Korea. *Environ. Poll.* **2019**, 255, 113142.
51. L. M. Weatherly, J. A. Gosse, Triclosan exposure, transformation, and human health effects. *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.* **2017**, 20, 447-469.
52. Triclosan. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Triclosan> (14. 6. 2024.)
53. T. Moss, D. Howes, F. M. Williams, Percutaneous penetration and dermal metabolism of triclosan (2,4, 4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether). *Food. Chem. Toxicol.* **2000**, 38, 361-370.
54. R. K. Papavasiliopoulos, S. Kang, Bibliometric Analysis: The Effects of Triclosan on Human Health. *Toxic.* **2022**, 10, 523.
55. L. M. Weatherly, R. H. Kennedy, J. Shim, J. A. Gosse, A microplate assay to assess chemical effects on RBL-2H3 mast cell degranulation: Effects of triclosan without use of an organic solvent. *J. Vis. Exp.* **2013**, 81, e50671.
56. A. P. Newton, S. M. Cadena, M. E. Rocha, E. G. Carnieri, M. B. Martinelli de Oliveira, Effect of triclosan (TRN) on energy-linked functions of rat liver mitochondria. *Toxicol. Lett.* **2005**, 160, 49-59.
57. A. L. Escarrone, S. S. Caldas, E. G. Primel, S. E. Martins, L. E. Nery, Uptake, tissue distribution and depuration of triclosan in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to freshwater. *Sci. Total. Environ.* **2016**, 560–561, 218–224.
58. A. M. Calafat, X. Ye, L. Y. Wong, J. A. Reidy, L. L. Needham, Urinary concentrations of triclosan in the U.S. population: 2003–2004. *Environ. Health. Persp.* **2008**, 116, 303-307.
59. J. Yin, L. Wei, Y. Shi, J. Zhang, Q. Wu, B. Shao, Chinese population exposure to triclosan and triclocarban as measured via human urine and nails. *Environ. Geochem. Health.*, **2016**, 38, 1125-1135.
60. A. L. Heffernan, C. Baduel, L. M. Toms, A. M. Calafat, X. Ye, P. Hobson, S. Broomhall, J. F. Mueller, Use of pooled samples to assess human exposure to parabens, benzophenone-3 and triclosan in Queensland, Australia. *Environ. Int.* **2015**, 85, 77-83.
61. G. Sandborgh-Englund, M. Adolfsson-Erici, G. Odham, J. Ekstrand, Pharmacokinetics of triclosan following oral ingestion in humans. *J. Toxicol. Environ. Health. A.* **2006**, 69, 1861-1873.

62. G. Provencher, R. Berube, P. Dumas, J. F. Bienvenu, E. Gaudreau, P. Belanger, P. Ayotte, Determination of bisphenol A, triclosan and their metabolites in human urine using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* **2014**, *1348*, 97-104.
63. L. Q. Wang, C. N. Falany, M. O. James, Triclosan as a substrate and inhibitor of 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate-sulfotransferase and UDP-glucuronosyl transferase in human liver fractions. *Drug. Metab. Dispos.* **2004**, *32*, 1162-1169.
64. Y. Wang, H. Quian, Phthalates and Their Impacts on Human Health. *Healthcare* **2021**, *9*, 603.
65. K. E. Sant, *Acute Embryotoxicity of Mono-2-Ethylhexyl Phthalate (MEHP) in Mice: Nutrition, Epigenomics, and Environment*, University of Michigan, **2014**, 22-159.
66. M. Wittassek, J. Angerer, Phthalates: Metabolism and exposure. *Int. J. Androl.* **2008**, *31*, 131-138.
67. M. Ema, R. Kurosaka, M. Amano, Y. Ogawa, Developmental toxicity evaluation of mono-n-butyl phthalate in rats. *Toxicol. Lett.* **1995**, *78*, 101-106.
68. M. Ema, A. Harazono, E. Miyawaki, Y. Ogawa, Developmental toxicity of mono-n-benzyl phthalate, one of the major metabolites of the plasticizer n-butyl benzyl phthalate, in rats. *Toxicol. Lett.* **1996**, *86*, 19-25.
69. R. W. Moore, T. A. Rudy, T. M. Lin, K. Ko, R. E. Peterson, Abnormalities of sexual development in male rats with in utero and lactational exposure to the antiandrogenic plasticizer di(2-ethylhexyl) phthalate. *Environ. Health Persp.* **2001**, *109*, 229-237.
70. I. Colón, D. Caro, C. J. Bourdony, O. Rosario, Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. *Environ. Health Persp.* **2000**, *108*, 895-900.
71. N. M. Grindler, L. Vanderlinden, R. Karthikraj, K. Kannan, S. Teal, A. J. Polotsky, T. L. Powell, I. V. Yang, T. Jansson, Exposure to phthalate, an endocrine disrupting chemical, alters the first trimester placental methylome and transcriptome in women. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1-9.
72. J. Jurewicz, W. Hanke, Exposure to phthalates: Reproductive outcome and children health. A review of epidemiological studies. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* **2011**, *24*, 115-141.
73. M. Szczuko, J. Kikut, U. Szczuko, I. Szydłowska, J. Nawrocka-Rutkowska, M. Zietek, D. Verbanac, L. Saso, Nutrition Strategy and Life Style in Polycystic Ovary Syndrome – Narrative Review. *Nutrients.* **2021**, *13*, 2452.
74. Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). URL: <https://www.webmd.com/women/what-is-pcos> (14. 6. 2024.)

75. S. Singh, N. Pal, S. Shubham, D. Kumar Sarma, V. Verma, F. Marotta, M. Kumar, Polycystic Ovary Syndrome: Etiology, Current Management, and Future Therapeutics. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 1454.
76. H. Ding, J. Zhang, F. Zhang, S. Zhang, X. Chen, W. Liang, Q. Xie, Resistance to the Insulin and Elevated Level of Androgen: A Major Cause of Polycystic Ovary Syndrome. *Front. Endocrinol.* **2021**, *12*, 741764.
77. J. C. Marshall, A. Dunaif, Should all women with PCOS be treated for insulin resistance? *Fertil. Steril.* **2012**, *97*, 18-22.
78. Polycystic Ovary Syndrome: Symptoms  
URL: <https://www.nhs.uk/conditions/polycystic-ovary-syndrome-pcos/symptoms/> (8. 8. 2024.)
79. PCOS Signs, Symptoms, and Diagnosis  
URL: <https://www.everydayhealth.com/pcos/symptoms-diagnosis/> (14. 6. 2024.)
80. Polycystic Ovary Syndrome: Treatment  
URL: <https://www.nhs.uk/conditions/polycystic-ovary-syndrome-pcos/treatment/> (8. 8. 2024.)
81. L. A. M. L. Urbanetz, J. M. Soares Junior, G. A. Rosa Maciel, R. Dos Santos Simoes, M. C. Pinherio Baracat, E. Chada Baracat, Does bisphenol A (BPA) participates in the pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *Clinics (Sao Paolo)* **2023**, *78*, 100310.
82. M. Hewlett, E. Chow, A. Aschengrau, S. Mahalingaiah, Prenatal Exposure to Endocrine Disruptors: A Developmental Etiology for Polycystic Ovary Syndrome. *Reprod. Sci.* **2016**, *24*, 2-4.
83. G. Tarantino, R. Valentino, C. Di Somma, Bisphenol A in polycystic ovary syndrome and its association with liver-spleen axis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. **2013**, *78*, 447–453.
84. R. Mukhopadhyay , N. B. Prabhu, S. P. Kabekkodu, P. S. Rai, Review on bisphenol A and the risk of polycystic ovarian syndrome: an insight from endocrine and gene expression. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2022**, *29*, 32631-32650.
85. K. Warita, T. Mitsuhashi, K. Ohta, S. Suzuki, N. Hoshi, T. Miki, Y. Takeuchi, In vitro evaluation of gene expression changes for gonadotropin-releasing hormone 1, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2, in response to bisphenol A treatment. *Congenit. Anom. (Kyoto)* **2013**, *53*, 42-45.
86. W. Zhou, J. Liu, L. Liao, S. Han, J. Liu, Effect of bisphenol A on steroid hormone production in rat ovarian theca-interstitial and granulosa cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2008**, *283*, 12-18.

87. Y. Li, W. Zhang, J. Liu, W. Wang, H. Li, J. Zhu, S. Weng, S. Xiao, T. Wu, Prepubertal bisphenol A exposure interferes with ovarian follicle development and its relevant gene expression. *Reprod. Toxicol.* **2014**, *44*, 33-40.
88. Y. Cao, X. Qu, Z. Ming, Y. Yao, Y. Zhang, The correlation between exposure to BPA and the decrease of the ovarian reserve. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **2018**, *11*, 3375-3382.
89. V. Mustieles, M. Casas, P. Ferrando-Marco, O. Ocon-Hernandez, I. Reina-Perez, A. Rodriguez-Carrillo, F. Vela-Soria, R. Perez-Lobato, E. M. Navarrete-Munoz, C. Freire, N. Olea, M. F. Fernandez, Bisphenol A and adiposity measures in peripubertal boys from the INMA-Granada cohort. *Environ. Res.* **2019**, *173*, 443-451.
90. G. Muscogiuri, L. Barrea, D. Laudisio, S. Savastano, A. Colao, Obesogenic endocrine disruptors and obesity: myths and truths. *Arch. Toxicol.* **2017**, *91*, 3469-3475.
91. L. Gao, H. N. Wang, L. Zhang, F. Y. Peng, Y. Jia, W. Wei, Effect of perinatal bisphenol A exposure on serum lipids and lipid enzymes in offspring rats of different sex. *Biomed. Environ. Sci.* **2016**, *29*, 686-689.
92. Dislipidemija, URL: <https://hemed.hr/Default.aspx?sid=15043> (8. 8. 2024.)
93. A. Milankov, M. Milanović, N. Milošević, J. Sudji, S. Pejaković, N. Milić, A. Bjelica, M. Medić Stojanoska, The effects of phthalate exposure on metabolic parameters in polycystic ovary syndrome. *Clin. Chim. Acta.* **2023**, *540*, 117225.
94. I. Al-Saleh, The relationship between urinary phthalate metabolites and polycystic ovary syndrome in women undergoing in vitro fertilization: Nested case-control study. *Chemosphere* **2022**, *286*, 131495.
95. Y. Nishihama, J. Yoshinaga, A. Iida, S. Konishi, H. Imai, M. Yoneyama, D. Nakajima, H. Shiraishi, Association between paraben exposure and menstrual cycle in female university students in Japan. *Reprod. Toxicol.* **2016**, *63*, 107-113.
96. S. J. Vagi, E. Azziz-Baumgartner, A. Sjodin, A. M. Calafat, D. Dumesic, L. Gonzalez, Exploring the potential association between brominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, perfluorinated compounds, phthalates, and bisphenol A in polycystic ovary syndrome: a case-control study. *BMC. Endocr. Disord.* **2014**, *14*, 86.
97. Y. Jiangfeng, Z. Wenting, L. Han, M. Yuchan, J. Fan, Z. Jun, Environmental exposure to triclosan and polycystic ovary syndrome: a cross-sectional study in China. *BMJ Open* **2018**, *8*, 19707.
98. B. Khani, F. Mehrabian, E. Khalesi, A. Eshraghi, Effect of soy phytoestrogen on metabolic and hormonal disturbance of women with polycystic ovary syndrome. *J. Res. Med. Sci.* **2011**, *16*, 297-302.



99. N. Mazhar, M. Un Nisa, M. S. Arshad, Phytoestrogenic Effects of Various Levels of Soy Isoflavones in Polycystic Ovarian Syndrome, 11. 5. 2020.

URL: <https://www.researchsquare.com/article/rs-27247/v1%20%2095%209598> (8. 8. 2024.)

100. K. Gayathri, V. Supriya, N. Palaniappan, Nutritional Composition and Sensory Evaluation of Phytoestrogen Rich Supplement for Women with PCOS. *Int. J. Nutr. Pharmacol. Neurol. Dis.* **2021**, *11*, 303-8.

## 5. PRILOG

### 5.1. Popis kratica

AMH	Anti-Mülerov hormon (engl. <i>Anti-Müllerian hormone</i> )
AR	androgenski receptor (engl. <i>androgen receptors</i> )
BPA	bisfenol A (engl. <i>Bisphenol A</i> )
CDC	Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (engl. <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> )
DDT	dikloro-difenil-trikloretan (engl. <i>dichloro-diphenyl-trichloroethane</i> )
DEHP	di(2-etilheksil) ftalat (engl. <i>diethylhexyl phthalate</i> )
DiNP	diizononil ftalata (engl. <i>diisononyl phthalate</i> )
DPHP	di(2-propilheptil) ftalat (engl. <i>di(2-propylheptyl) phthalate</i> )
EDC	endokrini disruptori (engl. <i>Endocrine disrupting chemicals</i> )
ER	estrogeni receptori (engl. <i>estrogen receptors</i> )
FSH	folikulstimulirajući hormon (engl. <i>folliclestimulating hormone</i> )
GnRH	gonadotropin-stimulirajući hormon (engl. <i>gonadotropin-releasing hormone</i> )
HDL	lipoprotein visoke gustoće (engl. <i>high-density lipoprotein</i> )
LDL	lipoprotein niske gustoće (engl. <i>low-density lipoprotein</i> )
LH	luteinizirajući hormon (engl. <i>luteinizing hormone</i> )
MEHP	2-etilheksil ftalat (engl. <i>mono (2-ethylhexyl) phthalate</i> )
NTP	Nacionalni toksikološki program (engl. <i>National Toxicology Program</i> )
OVCAR-3	stanična linija epitelnog karcinoma jajnika (engl. <i>ovarian epithelial carcinoma cell line</i> )
PCOS	sindrom policističnih jajnika (engl. <i>Polycystic ovary syndrome</i> )
PR	progesteronski receptori (engl. <i>progesterone receptors</i> )
TCS	triklosan (engl. <i>triclosan</i> )
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (engl. <i>World Health Organization</i> )