

**VISOKA ŠOLA ZA VARSTVO OKOLJA**

DIPLOMSKO DELO

**MEHANIZMI DELOVANJA DIOKSINOV IN FURANOV NA  
REPRODUKCIJSKI SISTEM IN NEPLODNOST PRI  
ČLOVEKU**

TEJA LEBENIČNIK

VELENJE, 2019

**VISOKA ŠOLA ZA VARSTVO OKOLJA**

DIPLOMSKO DELO

**MEHANIZMI DELOVANJA DIOKSINOV IN FURANOV NA  
REPRODUKCIJSKI SISTEM IN NEPLODNOST PRI  
ČLOVEKU**

TEJA LEBENIČNIK

Varstvo okolja in ekotehnologije

Mentor: prim. prof. dr. Ivan Eržen

VELENJE, 2019

Številka: 726-6/2018-2

Datum: 21. 3. 2018

Na podlagi Diplomskega reda izdajam naslednji

### SKLEP O DIPLOMSKEM DELU

Študentka Visoke šole za varstvo okolja **Teja Lebeničnik** lahko izdela diplomsko delo z naslovom v slovenskem jeziku:

**Mehanizmi delovanja dioksinov in furanov na reprodukcijski sistem in neplodnost pri človeku.**

Naslov diplomskega dela v angleškem jeziku:

**The mechanisms of action of dioxins and furans on the reproductive system and infertility in human.**

Mentor: **prof. dr. Ivan Eržen.**

Diplomsko delo mora biti izdelano v skladu z Diplomskim redom VŠVO.

Pouk o pravnem sredstvu: zoper ta sklep je dovoljena pritožba na Senat VŠVO v roku 8 delovnih dni od prejema sklepa.



Izr. prof. dr. Boštjan Pokorny  
dekan

Visoka šola za varstvo okolja

Trg mladosti 7 | 3320 Velenje

t: 03 898 64 10 | f: 03 89864 13 | e: info@vsvo.si

[www.vsvo.si](http://www.vsvo.si)



### IZJAVA O AVTORSTVU

Podpisani/a \_\_\_\_\_, vpisna številka \_\_\_\_\_,  
študent/ka visokošolskega strokovnega študijskega programa Varstvo okolja in  
ekotehnologije, sem avtor/ica diplomskega dela z naslovom

\_\_\_\_\_

ki sem ga izdelal/a pod:

- mentorstvom \_\_\_\_\_
- somentorstvom \_\_\_\_\_

S svojim podpisom zagotavljam, da:

- je predloženo delo moje avtorsko delo, torej rezultat mojega lastnega raziskovalnega dela;
- oddano delo ni bilo predloženo za pridobitev drugih strokovnih nazivov v Sloveniji ali tujini;
- so dela in mnenja drugih avtorjev, ki jih uporabljam v predloženem delu, navedena oz. citirana v skladu z navodili VŠVO;
- so vsa dela in mnenja drugih avtorjev navedena v seznamu virov, ki je sestavni element predloženega dela in je zapisan v skladu z navodili VŠVO;
- se zavedam, da je plagiatorstvo kaznivo dejanje;
- se zavedam posledic, ki jih dokazano plagiatorstvo lahko predstavlja za predloženo delo in moj status na VŠVO;
- je diplomsko delo jezikovno korektno in da je delo lektoriral/a \_\_\_\_\_;
- dovoljujem objavo diplomskega dela v elektronski obliki na spletni strani VŠVO;
- sta tiskana in elektronska verzija oddanega dela identični.

Datum: \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . \_\_\_\_\_

Podpis avtorja/ice: \_\_\_\_\_

## ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju prim. prof. dr. Ivanu Erženu, ter članoma komisije prof. dr. Bojanu Sedmaku in dr. Anji Bublik za vse usmeritve in strokovna mnenja, ter družini, prijateljem in vsem, ki so me podpirali v času študija.

## IZVLEČEK

Uspešna reprodukcija zahteva kompleksno serijo neodvisnih fizioloških, celičnih in molekularnih dogajanj, ki so lahko dovzetna za interakcije okoljskih reproduktivnih strupov oz. toksinov. Namen diplomskega dela je raziskati vplive dioksinov in furanov, njihove vire v okolju, biokemijo, toksičnost, ter kako kot hormonski motilci preko različnih mehanizmov delovanja vplivajo na reprodukcijski sistem pri človeku. Eno od poglavij govori o posrednih in neposrednih učinkih delovanja reproduktivnih toksinov na molekularnem nivoju. Nekaj besed je namenjeno tudi neplodnosti, ki je ena od posledic delovanja reproduktivnih toksinov. Opisanih je nekaj študij, ki so ugotovljale povezavo med dioksini in pojavnostjo endometrioze, kar zajema tudi ena od ugotovitev v diplomski nalogi. V razpravi pa so podani sklepi ugotovitev. Osredotočenost diplomske naloge je na pregledu celičnih in biokemičnih mehanizmov, s katerimi dioksini delujejo na reproduktivne funkcije in vplivov na hormonske procese.

**KLJUČNE BESEDE:** dioksini, mehanizmi delovanja, reproduktivni sistem, neplodnost, endometrioza, reproduktivni toksini.

## ABSTRACT

Successful reproduction requires a complex series of independent physiological, cellular and molecular occurrences, which can be susceptible to interactions between environmental reproductive toxicants or toxins. The aim of the thesis is to explore the group of dioxins and furans, their sources in the environment, biochemistry, toxicity, and how they, as endocrinol disruptors through various mechanisms effect on the human reproductive system, which is also presented in the thesis. One of the chapters describes the direct and indirect effects of the reproductive toxins function on a molecular basis. Some words are devoted to infertility, which is one of the consequences of the reproductive toxins function. A few studies are described that have been studying the relation between dioxins and the occurrence of endometriosis, which is also addressed in one of the hypotheses in the thesis. In the discussion, the conclusions of the hypothesis are given. The focus of the thesis is on the overview of cellular and biochemical mechanisms, with which dioxins affect the reproductive functions and changes in the hormonal status.

**KEYWORDS:** dioxins, mechanisms of function, reproductive system, infertility, endometriosis, reproductive toxins.

## KAZALO

1. UVOD .....	1
2. DIOKSINI IN FURANI .....	2
2.1. Viri dioksinov in furanov.....	3
2.2. Usoda v okolju in izpostavljenost .....	4
2.3. Biokemija in toksičnost .....	5
2.4. Principi delovanja na reproduktivni sistem .....	5
3. OKOLJSKE KATASTROFE V POVEZAVI Z DIOKSINI.....	8
3.1. Agent Orange.....	8
3.2. Katastrofa v Sevesu .....	9
3.3. Reproductive in razvojne posledice .....	9
4. V SLOVENIJI VELJAVNI PREDPISI V ZVEZI Z DIOKSINI IN FURANI .....	10
5. REPRODUKTIVNI SISTEM PRI ČLOVEKU .....	12
5.1. Ženski spolni organi.....	12
5.2. Moški spolni organi.....	14
5.3. Spolni hormoni .....	16
5.4. Endokrini sistem .....	17
6. NEPLODNOST .....	18
6.1. Endometrioza .....	19
6.2. Moška neplodnost .....	20
7. MOTNJE DELOVANJA ENDOKRINEGA SISTEMA .....	21
7.1. Ukrepi za omejitev škodljivega delovanja hormonskih motilcev .....	21
7.2. Mehanizmi delovanja hormonskih motilcev.....	22
8. REPRODUKTIVNA TOKSIKOLOGIJA.....	23
8.1. Načini delovanja reproduktivnih toksinov .....	24
9. UGOTOVITVE .....	26
10. RAZPRAVA S SKLEPI.....	30
11. POVZETEK.....	32
12. SUMMARY .....	33
13. LITERATURA IN VIRI .....	34

## KAZALO SLIK

Slika 1: Indukcija monooksigenaz .....	6
Slika 2: Strukturna podobnost dioksina in estrogena .....	6
Slika 3: Lastnosti dioksina omogočajo vezavo na Ah receptor .....	7
Slika 4: Stopnje biotransformacije dioksina .....	7
Slika 5: Razprševanje herbicidov iz zraka .....	8
Slika 6: Ženski reprodukivni organi .....	13
Slika 7: Maternica (uterus) .....	13
Slika 8: Moški reprodukivni organi.....	15
Slika 9: Prerez moda.....	15
Slika 10: Hormona estradiol (levo) in testosteron (desno). .....	16
Slika 11: Endometrioza .....	19
Slika 12: Simptomi endometrioze.....	19
Slika 13: Vzroki moške neplodnosti.....	20
Slika 14: Podatek o reprodukivni strupenosti 2,3,7,8 – TCDD za podgane.....	26
Slika 15: OpenFoodTox vsebuje največ podatkov s področja okolja, sledijo mu podatki o živalih in humani podatki.....	27
Slika 16: Endometrioza pri Rhesus opicah – slika a prikazuje jajčnike, sliki b in c pojav cist	29
Slika 17: Usoda dioksina v okolju.....	30



## 1. UVOD

Razviti svet je takoj po drugi svetovni vojni slavil kemično industrijo, ki je z razvojem pomagala k visokim donosom hrane, pogosto presežkom. Prav tako se je slavil nov način življenja ovit v plastiko, goriva, toksične kovine ter čistila. Danes se povečuje skrb, da še posebej mlajše generacije za ta napredek plačujejo visok davek, ki se ga niti ne zavedajo. Število obolenj z desetletji narašča in povezavo lahko iščemo tudi v stanju okolja. Med bolj odmevnimi posledicami onesnaženosti s kemikalijami so anomalije v reproduktivnem sistemu. Izšle so številne študije, ki so to potrdile, druge spet ne. Zaključki še danes niso dokončni, saj najnovejše raziskave še potekajo. Potrebno jih je nadaljevati tudi na večji populaciji. Številne raziskave so v ospredje postavile onesnažila iz okolja, ki motijo hormonsko, endokrino delovanje. Dokazi temeljijo predvsem na živalskih študijah, ostalih raziskav je zelo malo. Te študije slonijo na teoriji, da te snovi motijo hormonske procese. Tudi Evropska unija je že opozorila na to, ko je leta 2002 omenjala, da se v onesnaženem okolju pojavljajo motilci – eksogene substance, ki motijo delovanje hormonskega sistema in negativno vplivajo na sintezo, izločanje in njegovo normalno delovanje.

Ne le struktura, ampak tudi funkcija reproduktivnega sistema je lahko poškodovana ali onemogočena zaradi izpostavljenosti različnim okoljskim onesnažilom. V zadnjih nekaj letih vse bolj narašča zaskrbljenost zaradi številnih motenj reprodukcije s strani ksenobiotikov, vključno z okoljskimi izpostavljenostmi. Na evropskem trgu je približno 70 000 do 100 000 kemikalij za katere ni nobenih ali premalo podatkov o njihovi toksičnosti (Virant-Klun in sod., 2002 v Beltran in sod., 1998). Pogrešljivi so celo osnovni testi toksičnosti in tveganja, ki jih predpisuje Organizacija za gospodarsko sodelovanje in razvoj (OECD). Mnoge od teh kemičnih snovi iz okolja lahko negativno vplivajo na reprodukcijo na način, da kažejo hormonom podobno oz. enako delovanje in tako posegajo v hormonski sistem organizma. Takšnim kemičnim snovem pravimo tudi kseno-estrogeni ali endokrinomoteče snovi (Virant-Klun in sod., 2002).

V nalogi je podrobneje predstavljena skupina dioksinov, ki so poliklorirane organske spojine ali natančneje poliklorirani dibenzo-p-dioksini (PCDD), ki nastajajo pri izgorevanju organskih snovi. Gre za zelo strupene spojine, ki spadajo med obstojna organska onesnažila (ang. Persistent Organic Pollutants – POPs) in so bile uvrščene med 12 za okolje najbolj škodljivih organskih onesnažil (NIJZ po EFSA, <http://www.nijz.si/sl/dioksini-furani-in-pcb-v-zivilih-ozroma-hrani>). Spojine, ki so jim po številnih značilnostih zelo podobne in se zato tudi skupaj proučujejo so: poliklorirani dibenzo furani (PCDF), poliklorirani bifenili (PCB), poliklorirani difenil etri, poliklorirani naftaleni in drugi. V nalogi sem se ukvarjala s tremi ugotovitvami in sicer zanimalo me je, ali v Sloveniji obstaja uradna baza podatkov, kjer lahko pridobimo podrobne informacije o dioksinih in furanih, ali skupina dioksinov in dioksinom podobnih snovi spada med snovi, ki povzročajo endometriozo pri človeku, ter ali dioksini in furani največkrat preidejo v telo z živili. V diplomskem delu so opisani tudi najbolj značilni mehanizmi delovanja dioksinov v živem organizmu, da bi lahko razumeli, kako je s tem povezana tudi humana reprodukcija. Glavni cilj naloge je raziskati vplive delovanja dioksinov in dioksinom podobnih snovi na reprodukcijske procese pri človeku.

## 2. DIOKSINI IN FURANI

Dioksini in furani so halogenirane organske policiklične spojine s skupnimi kemičnimi in biološkimi lastnostmi. Njihova razgradnja je zelo počasna, zato so uvrščeni med dvanajst za okolje najbolj škodljivih obstojnih organskih onesnaževal (»POPs«). V svetu so bili za njih sprejeti najstrožji ukrepi s področja nadzora in varstva okolja. (EFSA, 2010). Z besedo dioksini in furani označujemo skupino halogeniranih organskih spojin in sicer 75 vrst polikloriranih dibenzo-p-dioksinov (PCDD) in 135 vrst polikloriranih dibenzo furanov (PCDF). Glede na položaj klorovih atomov so klasificirani v različne veje (Berntssen in Lundebye, 2008).

Čeprav se uporablja v javnih razpravah, izraz *dioksin* ni pravilen kemijski izraz. Poliklorirani dibenzo-p-dioksini (PCDD) so skupina spojin, ki vključujejo tudi 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksin oz. TCDD. Glede na strupenost, ki je podobna dioksinu, je širša skupina halogeniranih aromatskih spojin bila prepoznana kot podobna dioksinom. Ti vključujejo še določene poliklorirane dibenzo furane (PCDF), bifenile (PCB), difenil etre, naftalene in ostale. Brominirane in kloro/bromo različice teh spojin so prav tako podobne dioksinom. Od 419 tipov spojin, ki so bile identificirane in so podobne dioksinu, jih je okoli 30, ki se po strupenosti lahko primerjajo z dioksinom, ki pa je najvišje na lestvici strupenosti (WHO, 2016 <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dioxins-and-their-effects-on-human-health>).

Dioksin je širši publiki znan kot arhetip strupenih kemikalij, substanca, ki le v nekaj minutah lahko povzroči nepopravljivo škodo. Nekateri menijo, da dioksin pri ljudeh ne povzroča drugih težav kot klorakne, ki iznakazujejo kožo (pojav ogrcev, cist in pustul, ki se lahko pojavijo pri prekomerni izpostavljenosti halogeniranim aromatičnim spojinam vključno s kloriranimi dioksini in dibenzo furani). Pravijo, da je dioksin prvotni primer kemofobije, tj. neracionalnega strahu pred kemikalijami.

Sedanji znanstveni dokazi kažejo, da dioksin ni le potencialni karcinogen, ampak tudi, da so okoljska tveganja pri uporabi dioksina veliko bolj resna, kot je bilo prvotno mišljeno. Dioksin se obnaša kot izredno obstojen sintetičen hormon, ki moti pomembne fiziološke sisteme. Takšno oponašanje strupov vodi k vrsti bioloških sprememb, še posebej se spremeni razvoj celic, njihova delitev in uravnavanje. Najbolj težavna posledica je možnost reproduktivnih in razvojnih učinkov dioksina in dioksinu podobnim spojinam.

Dioksinu podobne spojine proizvajajo podoben spekter učinkov z biološko aktivnostjo, ki naj bi jih povzročal skupni mehanizem. Ključni korak je vezava dioksina in dioksinu podobnih spojin na citoplazmatski receptor, AhR (ang. The Aryl hydrocarbon Receptor). Planarna oblika molekule omogoči vezavo na receptor. TCDD se naveže na Ah receptor z zelo visoko afiniteto in ta povezava je zelo močna. Druge planarne molekule približno enake velikosti in oblike se prav tako precej dobro prilegajo in so tudi zelo aktivne. Čeprav se določeni tipi PCB vežejo na receptor samo šibko, jih njihovo relativno izobilje v okolju dela biološko pomembne. PCB, ki imajo vezan klor na *orto* položajih vsakega obroča (pozicije 2, 2', 6 in 6'), ki preprečuje molekulam, da bi privzele planarno obliko, se zaradi tega ne vežejo na Ah receptor in niso sposobne sprožati bioloških učinkov, kakršne sprožajo dioksini in dioksinom podobne spojine (Bruner-Tran, Osten, 2010). Nekateri od teh PCB lahko biološko aktivnost izražajo skozi druge mehanizme (Pauwels in sod., 2001).

## 2.1. Viri dioksinov in furanov

V čisti obliki je dioksin brezbarvna kristalinična trdna snov. V okolju nastopa kot zmes različnih komponent in nečistoč. Gre za kemično inertno in toplotno stabilno spojino, ki se razgradi pri segrevanju nad 750 ° C. Dioksin nastaja v mešanica klor in organskih spojin v industrijskih procesih, kot je beljenje papirne mase, proizvodnja pesticidov, ali med sežiganjem materialov, ki vsebujejo klor (Schechter, 1994).

Obsežna industrijska proizvodnja dioksinu podobnih polikloriranih spojin se je začela med 1. sv. vojno. Zdravstvene in okoljske težave so bile takrat zanemarjene in so jih prepoznali šele desetletja kasneje. Poliklorirani dibenzo-p-dioksini (PCDD) in poliklorirani dibenzo furani (PCDF) so nezaželeni stranski produkti. Znanje o njihovem izvoru se je znatno povečalo, ko se je začelo identificiranje TCDD kot neželenih stranskih produktov pri proizvodnji določenih triklorofenolov in herbicidov.

Veliko bolj klorirani PCDD in PCDF so nastali med proizvodnjo pentaklorofenola, spojine, ki se še vedno uporablja v ZDA in po svetu za zaščito lesa. Veliko višje vrednosti se pojavijo pri segrevanju PCB-jev pod pravimi pogoji. PCDD in PCDF so odkrili v pepelu v sežigalnicah odpadkov leta 1977, pozneje še v emisijah zraka. Najprej ni bilo znano, ali so bile te emisije povezane z neizgorelim PCDD in PCDF v gorivu. Dioksinu podobne spojine se lahko pojavijo med skoraj kakršnim koli procesom gorenja, kjer je prisoten klor. V severni Ameriki se izreden porast PCDD in PCDF v usedlinah jezer ujema z začetki velike industrije klor in izgorevanjem njegovih produktov med obdobjem od 1920 do 1940. PCDD in PCDF so zaznali tudi v elektrofitrskem pepelu in sajah pri izgorevanju premoga (Schechter, 1994).

PCDD in PCDF se sproščajo tudi, ko druga goriva, ki vsebujejo klor, izgorijo, vključno s kemičnimi odpadki, bolnišničnimi odpadki in blatom iz čistilnih naprav. Izpuhi iz motorjev, kjer izgoreva svinčen bencin, vsebujejo tako klorirane in mešane halogenirane dioksine in dibenzo furane, ki očitno izvirajo iz etilen diklorida in etilen dibromida. Veliko nižje vrednosti PCDD in PCDF so bile najdene v izpuhih vozil, ki so uporabljala neosvinčen bencin, ki očitno ne vsebuje veliko klor (Schechter, 1994, Čehič, 2007).

Identifikacija dodatnih virov PCDD in PCDF krepí povezavo med temi spojinami in industrijo klor. PCDD in PCDF nastajata tudi pri beljenju celuloze in papirja s klorom. Dioksin prav tako nastaja med kemičnim čiščenjem, razmaščevanjem železa, in regeneracijo klor v železnih katalizatorjih, kjer se uporablja nafta.

Velike količine PCDD in PCDF prav tako nastanejo tudi v določenih tipih obdelave železa, izločajo se tudi pri gorenju stare kovine, kot so bakrene žice, prekrte s PVC plastično izolacijo. Drugi viri vključujejo taljenje aluminija, magnezija in izdelke iz niklja, topljeno staro kovino in produkcijo železa in jekla. V teh proizvodnih procesih se klor uporablja ali je v olju za rezanje, plastiki in drugih prisotnih materialih. Dioksin in dioksinu podobne spojine torej predstavljajo problem industrije klor. Razpon virov se je razširil do točke, kjer je skoraj vsa industrija klor lahko osumljena generiranja dioksina in dioksinu podobnih spojin na neki točki med produkcijo, uporabo ali odlaganjem. Trenutno ocenjujejo, da so neprimerna temperatura pri industrijskih procesih in napačno ravnanje z občinskimi, bolnišničnimi, nevarnimi in industrijskimi odpadki, ter obdelava železa največji trenutni viri emisij v ozračju (Kogevinas, 2001).

## 2.2. Usoda v okolju in izpostavljenost

Dioksin danes predstavlja problem kot stranski produkt pri industrijskih procesih s klorom, prav tako tudi nastaja pri izgorevanju goriv, ki vsebujejo klor. Povečanje števila industrijskih procesov, ki vsebujejo klor, je izjemno vplivalo tudi na povišane vrednosti nevarnih klorovih spojin v okolju in v bioloških procesih. Akumulacija je odvisna tudi od okoljskega vedenja dioksina in dioksinu podobnih spojin in posledic njihovih kemičnih in fizikalnih lastnosti, kot so nizek parni tlak in topnost v vodi, ter visoka lipofilnost in kemijska stabilnost (Schechter, 1994).

Viri izgorevanja, ki so lahko različne dejavnosti, od kemijske sinteze do sežiganja plastike, ter industrijsko beljenje papirja s klorom in izgorevanje goriva v avtomobilskih motorjih, izločajo velike količine dioksinov in dioksinom podobnih spojin v ozračje, kjer so razpršene in predmet selektivne degradacije. Bolj klorirane spojine (tiste z višjim številom klorovih atomov) se bolj absorbirajo v zrak. Večji delci manj kloriranih sorodnih spojin (dibenzo furani in bifenili) se nahajajo v pari, kar jih naredi bolj dovzetne za fotolizo (delci v pari hitreje podležejo fotolizi, kjer prihaja do razgradnje pod vplivom ultravijolične svetlobe, v nekaterih primerih tudi vidne svetlobe).

Veliko omenjenih spojin je dovolj stabilnih, da potujejo dolge razdalje v ozračju, kar vodi k njihovemu dolgemu zadrževalnemu času v okolju. Odlaganje iz zraka onesnaži zemljo, vodo, in vegetacijo. Odlaganje delcev in pare na rastline zagotavlja pomemben vstop v zemeljsko prehranjevalno verigo. Izpostavljenost preko živil je lahko v nekaterih primerih stokrat do tisočkrat višja kot pri vdihavanju, kar predstavlja veliko težavo pri dopuščanju virov zračnih emisij.

Zaradi njihove nizke topnosti v vodi in nizkih parnih pritiskov, si PCDD in PCDF delita zemljo in usedline. Razpolovna doba PCDD je dovolj dolga, da se v prsti zadrži desetletje in še dlje v sedimentih (Schechter, 1994).

V vodnih sistemih se visoko lipofilne in hidrofobne dioksinu podobne spojine biokoncentrirajo iz vode v vodne živali in se potem biomagnificirajo v večstopenjski prehranjevalni verigi. Vrednosti lahko dosežejo koncentracije na desetine milijonov višje kot tiste, ki se raztopijo v vodi. Kombinacija učinkov bioakumulacije in delovanja usedlin kot rezervoarja povzroči neposredno izpraznitev teh spojin v morske sisteme, kar pomeni zelo velik problem.

Ljudje smo visoko na prehranjevalni verigi, kar se tiče uživanja mesa in mleka kot tudi rastlin in rib. Povprečna oseba v industrijski državi je izpostavljena dioksinom in furanom predvsem preko teh živil. Dioksinu podobne spojine se primarno nakopičijo predvsem v maščobnem tkivu. Približno 90-95% dioksinov vstopi v človeško telo preko uživanja onesnažene hrane in vode skozi prebavni trakt, preostalih 5-10% pa z zrakom (prašni delci) skozi pljuča in kožo (Schechter, 1994, NIJZ, 2017).

## 2.3. Biokemija in toksičnost

Da bi lahko izmerili njihovo biološko moč, imajo vse dioksinu podobne spojine toksični ekvivalentni faktor (TEF), najbolj strupen dioksin (TCDD) ima TEF 1. Za dioksine niso določene nobene največje dovoljene koncentracije, saj so toksični v kakršni koli količini. Še več – za dioksine velja, da imajo sinergistične učinke, kar pomeni da še povečujejo učinke nekaterih strupenih snovi kot so nitrati, sulfidi, klorofenoli in sevanje. Dioksini so ksenobiotiki oz snovi, ki so tuje organizmu (Schetler in sod., 1999).

Ko so v telesu, dioksini delujejo na molekularnem nivoju. Ključni princip njihovega delovanja je vpliv na celične receptorje, ki so odgovorni za pravilno delovanje hormonskega sistema. Dioksini spreminjajo koncentracije in razmerja hormonov (estrogen, progesteron, testosteron, ščitnični hormon,...) in njihovih receptorjev (Birnbau, 1995, Petterson in sod., 1993). Toksičnost dioksina temelji na interakciji s specifičnim proteinom – receptorjem AhR (aril ogljikovodikov receptor). Dioksin in dioksinu podobne molekule lahko prehajajo skozi celično membrano in se v citoplazmi vežejo na receptorje AhR. Vezava TCDD na AhR stimulira citokrom P-450, ki razgrajuje toksične spojine. TCDD lahko spremeni vrednosti določenih hormonov skozi njihov vpliv na encime, ki primarno presnavljajo ksenobiotike. Tako vpliva na uravnavanje steroidnih hormonov, zmanjšuje število receptorjev estrogena, tako da so tkiva manj odzivna na ta hormon, kar lahko posledično zmanjša plodnost (Rosselli in sod., 2000, Sikka in Wang, 2008).

TCDD zmanjšuje vrednosti testosterona z zmanjševanjem nastanka testosterona iz holesterola v testisih. Hipofiza in hipotalamus se normalno odzoveta na nizko koncentracijo testosterona s povečevanjem izločanja luteinizirajočega hormona, kar povzroča povečan nastanek testosterona (Schetler in sod., 1999).

Na prikriti način napadejo endokrine žleze, ki uravnavajo presnovo, razmnoževanje, rast in razvoj ter motijo njihovo delovanje.

## 2.4. Principi delovanja na reproduktivni sistem

Reproduktivna funkcija je lahko motena preko dveh glavnih principov: z indukcijo jetrnih monoksigenaz (slika 1), ter s strukturno podobnostjo z estrogeni (slika 2) bodisi neposredno, bodisi po presnovi (Mattison in sod., 1983).

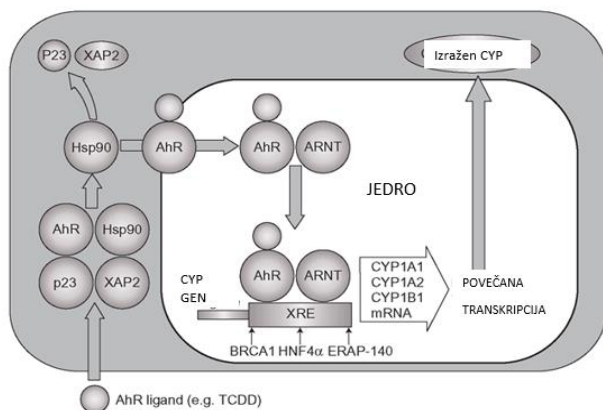
Reproduktivni toksini lahko vplivajo na reprodukcijo s hormonsko motnjo ali imunsko motnjo. Neposredni učinki se običajno pojavijo, če je kemikalija strukturno podobna endogeni molekuli in je tako sposobna vstopiti v celico, kjer moti intracelularne procese. Posredni učinki pa se pojavijo, kadar kemikalija zahteva presnovo v telesu, preden nastopi njen toksični efekt (Sharara in sod., 1998).

Za izražanje bioloških učinkov dioksina in dioksinu podobnih snovi je primarna njihova vezava na receptorski protein, kar jim omogoča njihova edinstvena molekulska zgradba (slika 3). Ah receptor (AhR) je bil prvič prepoznani ravno med študijami dioksinov in policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAH), ki so ligandi Ah receptorja. Ko se enkrat tovrsten ligand veže na receptor,

sledi serija znotrajceličnih procesov (npr. migracija nastalega kompleksa v jedro, kjer vpliva na sintezo in koncentracijo proteinov) (Schetler in sod., 1999).

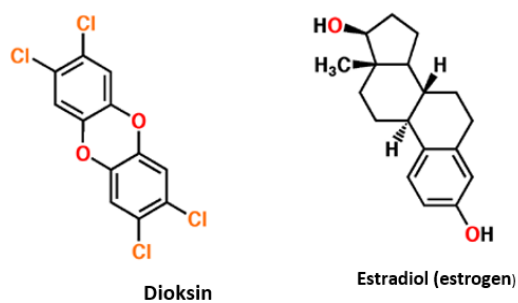
Med proteini, ki jih inducira Ah receptor, sta dva tesno povezana encima; citokrom P-4501A1 in citokrom P-4501A2 (v novejši nomenklaturi CYP1A1 in CYP1A2). Takoimenovani encimi faze 1 (citokrom P-45011) oksidirajo »tuje« snovi – ksenobiotike, med katere štejemo poliklorirane dibenzo dioksine (PCDD), policiklične aromatske ogljikovodike in nekatera farmacevtska zdravila. Po oksidaciji je ksenobiotik predmet nadalnje encimske pretvorbe. Encimi faze 2 (citokrom P-45012) dodajo hidrofilne skupine, ki povečajo topnost v vodi in posledično tudi lažje izločanje iz telesa (slika 4). Na ta način lahko encimi inducirani z AhR zmanjšujejo biološke vplive oz. olajšajo njihovo metabolno razgradnjo - sistemi razstrupljanja (Schetler in sod., 1999).

Dioksin in sorodne halogenirane spojine močno inducirajo citokroma (P-4501A1 in P4501A2), vendar jih ti encimi ne oksidirajo zlahka. Očitno so zaščiteni pred vezavo zaradi prisotnosti atomov halogenov v določenih položajih molekule, zato se izločajo zelo počasi. Izredna biološka moč dioksinov in podobnih spojin je edinstvena kombinacija dveh lastnosti: visoka afiniteta za Ah receptor, in biološka stabilnost (Schechter, 1994).



Slika 1: Indukcija monooksigenaz

Vir slike 1 (povzeto po): <http://what-when-how.com/human-drug-metabolism/mechanisms-of-enzyme-induction-induction-of-cytochrome-p450-systems-human-drug-metabolism-part-1/> (29.3. 2019).

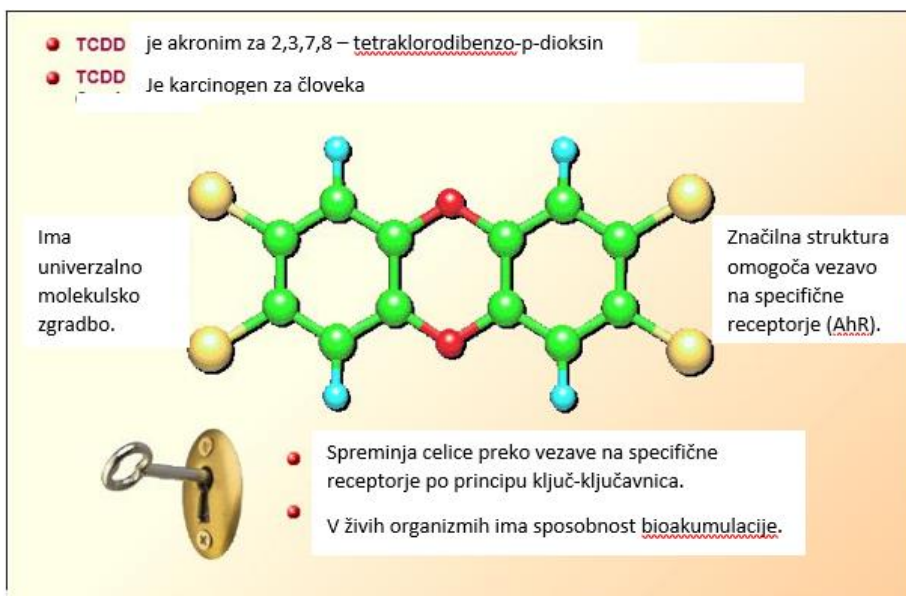


Slika 2: Strukturna podobnost dioksina in estrogena

Vir slike 2 (povzeto po): <http://iverson.cm.utexas.edu/courses/310N/MOTD%20FI05/MOTDfI02%20copy/MOTDDioxin.html> (22.1.2019).

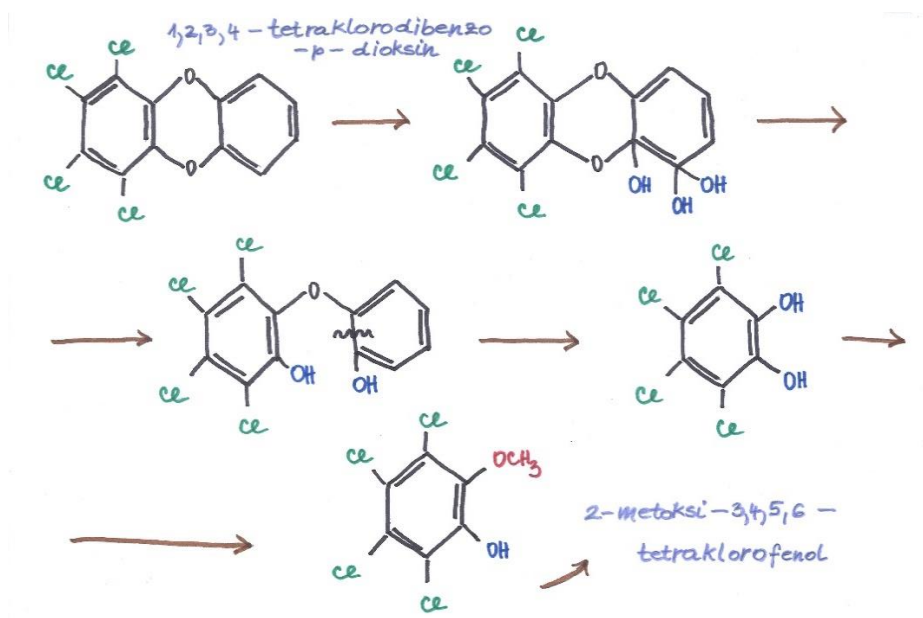


Eden najbolj znanih bioloških učinkov dioksina je torej povečana sinteza citokromov. Citokromi P-450 (CYP) so encimi, ki s pomočjo kisika oksidirajo ksenobiotike in so najpomembnejša družina encimov med oksigenazami. Katalitična aktivnost citokromov P-450 je pomembna za detoksifikacijo ksenobiotikov. Hidroksilacija snovi, ki so navadno nepolarne, povzroči nastanek bolj topnih produktov, ki se iz telesa lažje odstranijo. Sintaza citokromov P-450 običajno poteka v jetrih, inducirajo jo v jetrih prisotni toksini.



Slika 3: Lastnosti dioksina omogočajo vezavo na Ah receptor

Vir slike 3 (povzeto po): <http://experttoxicologist.com/newsite/toxicology-toxic-exposures-tcdd-dioxin.aspx?cln=1> (17.1.2019).



Slika 4: Stopnje biotransformacije dioksina

Vir slike 4 (povzeto po): [https://www.researchgate.net/figure/Proposed-pathways-for-the-biotransformation-of-1-2-3-trichlorodibenzo-p-dioxin-A-and\\_fig4\\_7380450](https://www.researchgate.net/figure/Proposed-pathways-for-the-biotransformation-of-1-2-3-trichlorodibenzo-p-dioxin-A-and_fig4_7380450) (16.2. 2019).

### 3. OKOLJSKE KATASTROFE V POVEZAVI Z DIOKSINI

#### 3.1. Agent Orange

Agent Orange je herbicid in defoliant. Poznan je po uporabi pri ameriški vojski v okviru vojnega programa, ki je uporabljala herbicide v operaciji Ranch Hand v času vietnamske vojne od leta 1961 do 1971. Razen škodljivih vplivov na okolje, je prišlo pri izpostavljenih ljudeh do številnih zdravstvenih problemov. Kratek zgodovinski opis pravi, da je sredi leta 1961 predsednik Ngo Dinh Diem iz južnega Vietnama zahteval od Združenih držav, da razpršijo zračne herbicide in s to potezo začel razpravo v Beli hiši. Novembra 1961 je predsednik John F. Kennedy dovolil začetek operacije Ranch Hand, ki je bil kodni naziv za herbicidni program ameriških vojnih letalskih sil v Vietnamu. Ameriška vojska je tako razpršila 75.700.000 litrov različnih kemikalij oz. herbicidov na ozemlju Vietnama in sosednjih držav (slika 5). Dioksinu je bilo v tej operaciji izpostavljenih okoli 4 milijone ljudi od katerih je približno milijon utrpel resne zdravstvene posledice. Prišlo je do genetskih poškodb, ki so povzročile deformacije med potomci izpostavljenih oseb. Poleg tega je ameriška vlada poročala o številnih primerih levkemije in drugih vrst raka pri vojnih veteranih (Schechter, 1994). Agent Orange je povzročil tudi izjemno okoljsko škodo v Vietnamu, saj je bilo uničenih več kot 3.100.000 hektarjev gozdov oz. 31.000 km<sup>2</sup>. Zmanjšana je bila tudi pestrost živalskega sveta. Leta 2012 so Združene države in Vietnam začeli sodelovati pri čiščenju strupenih kemikalij. Ameriška vlada je namenila veliko finančnih sredstev za zmanjšanje onesnaženja v večjem delu Vietnama.



Slika 5: Razprševanje herbicidov iz zraka

Vir slike 5 (povzeto po): [https://vva.vietnam.ttu.edu/repositories/2/digital\\_objects/281779](https://vva.vietnam.ttu.edu/repositories/2/digital_objects/281779) (19.9.2019).



### 3.2. Katastrofa v Sevesu

Katastrofa v Sevesu (Italija) je primer industrijske nesreče, ki se je zgodila 10. julija 1976 v kemičnem obratu približno 15 kilometrov severno od Milana v Lombardiji. Tam so v lokalni tovarni sintetizirali triklorofenol, ki se je podobno kot pentaklorofenol uporabljal kot insekticid. Zaradi slabo nadzorovane kemijske reakcije kloriranja je prišlo do velikega porasta temperature in reakcija je ušla izpod nadzora. Prišlo je do eksplozije in požara. Nad tovarno se je sprostil ogromen dioksinški oblak. Takoj po nesreči so vodilni iz tovarne pričeli dajati izjave, češ da se ni zgodilo nič hudo nevarnega in da so pretirane skrbi odveč. Vendar pa so tamkajšnji prebivalci kmalu spoznali, da je stvar resnejša kot so sprva trdili, saj so najprej začele poginjati krave, ki so se pasle na zastrupljenih travnikih, kjer so bile akutno izpostavljene dioksinu, ki se je po eksploziji sedimentiral po travi. Kasneje pa so se pojavile še klorakne pri lokalnih otrocih, ki so pili mleko zastrupljenih krav. Približno teden dni po nesreči so odgovorni ugotovili, da so se tekom nesreče v okolje spustile ogromne količine dioksina. Med strokovnjaki in uradniki je prišlo do panike. Vse prebivalce Sevesa so evakuirali in namestili v posebna taborišča, kjer so bili stalno pod nadzorom zdravnikov in znanstvenikov. Vse, kar so sumili da je bilo kontaminirano z dioksinom so odstranili in sežgali v posebnih sežigalnicah nevarnih odpadkov pri temperaturah višjih od 1100°C. Na vsak način se je bilo potrebno znebiti dioksina. Prebivalci Sevesa danes živijo v normalnih domovih, vendar so še naprej predmet raziskovanja znanstvenikov. Nesreča v Sevesu je v Evropi pustila izrazito globoko sled. Začele so se mnoge raziskave o dioksinih, še posebej važno pa je bilo ugotoviti kje, kdaj in zakaj nastajajo. Čeprav takrat ni bilo na voljo zelo specifičnih metod za odkrivanje različnih dioksinov in furanov so dokaj natančno določili kateri so najpomembnejši viri emisij v okolje. Na prvem mestu je bila glede na količino sproščenih dioksinov sinteza različnih polihalogeniranih snovi, vendar le-ta ni imela tolikšne vloge kot visokotemperaturna obdelava organskih snovi z višjo vsebnostjo halogenov (Schechter in sod., 1994).

### 3.3. Reproduktivne in razvojne posledice

Po katastrofi Agent Orange so poročali o reproduktivnih in razvojnih posledicah pri vojnih veteranih, ter tudi tamkajšnjih prebivalcih in njihovih potomcih (Veterans and Agent Orange: Helath Effects of Herbicides Used in Vietnam, 1994).

Dojenčki po vsem Vietnamu so se začeli rojevati s hudimi mutacijami – nekateri s fizičnimi in duševnimi motnjami, drugi z dodatnimi okončinami, nekateri brez oči. Posledice mutacij, ki jih je povzročil Agent Orange, je še dandanes mogoče začutiti med prebivalstvom. Nekateri zarodki so bili preveč deformirani, da bi sploh preživeli porod. Tako danes obstaja soba v tamkajšnji bolnišnici, kjer je ohranjenih približno 150 mrtvorjenih zarodkov, ki imajo neverjetne deformacije. Hranijo se kot zapis o katastrofalnih posledicah kemičnega orožja. Poročali so tudi o spontanah splavih, nizki porodni teži, raku pri novorojenčkih, anomalijah semenske tekočine in neplodnosti (Hatch, Stein, 1986).

Pri preučevanju posledic nesreče v Sevesu so ugotavljali tudi povezavo med pojavnostjo endometrioze in izpostavljenostjo dioksinom (Eskenazi in sod., 2000, Eskenazi in sod., 2010).

## 4. V SLOVENIJI VELJAVNI PREDPISI V ZVEZI Z DIOKSINI IN FURANI

**Za vsa obstojna organska onesnaževala veljajo:**

- Stockholmska konvencija o obstojnih organskih onesnaževalih in po njej v RS izdan Zakon o ratifikaciji Stockholmske konvencije o obstojnih organskih onesnaževalih (Ur. l. RS, št. 32/2004, Mednarodne pogodbe),
- Protokol iz leta 1979 h Konvenciji o onesnaževanju zraka na velike razdalje preko meja glede kontrole emisij obstojnih organskih onesnaževal.
- Uredba Evropskega Parlamenta in Sveta (ES) št. 850/2004 z dne 29. aprila 2004 o obstojnih organskih onesnaževalih in spremembi Direktive 79/117/EGS
  - besedilo uredbe in povezani dokumenti - EUR LEX spletne strani (glejte zavihka "Besedilo" in "Povezani dokumenti", v slednjem tudi povezavo "Izberite vse dokumente, ki se nanašajo na zadevni akt")
- Uredba o izvajanju Uredbe Evropskega parlamenta in Sveta ES o obstojnih organskih onesnaževalih (Ur.l. RS, št. 4/2005)

Vir:[http://www.uk.gov.si/si/zakonodaja\\_in\\_dokumenti/veljavni\\_predpisi/obstojna\\_organska\\_onesnazevala/](http://www.uk.gov.si/si/zakonodaja_in_dokumenti/veljavni_predpisi/obstojna_organska_onesnazevala/) (19.1.2019).

**Za dioksine in dioksinu podobne PCB veljajo:**

EU ZAKONODAJA

### UREDBE

1. *Prečiščeno besedilo*: Uredba Komisije (ES) št. 1881/2006 z dne 19. decembra 2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih (brez 629/2008/ES in 565/2008/ES) *Spremenjena z*:

Uredba Komisije (ES) št. 565/2008 z dne 18. junija 2008 o spremembi Uredbe (ES) št. 1881/2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih v zvezi z določitvijo mejnih vrednosti za dioksine in PCB v ribjih jetrih

2. Uredba Komisije (ES) št. 1883/2006 z dne 19. decembra 2006 o metodah vzorčenja in analitskih metodah za uradni nadzor vrednosti dioksinov in dioksinom podobnih PCB v nekaterih živilih

### ODLOČBE

Odločba Komisije 2008/352/ES z dne 29. aprila 2008 o uvedbi posebnih pogojev za guar gumi s poreklom ali dobavljen iz Indije zaradi tveganj onesnaženja v izdelkih s pentaklorofenolom in dioksini.

## **PRIPOROČILA Evropske komisije o ravnanju z dioksini ter dioksinu podobnimi snovmi**

- [Priporočilo Komisije z dne 16. novembra 2006 o spremljanju ravni prisotnosti dioksinov ter dioksinom podobnih in dioksinom nepodobnih polikloriranih bifenilov v živilih](#) (2006/794/ES)
- [Priporočilo Komisije z dne 6. februarja 2006 o zmanjšanju prisotnosti dioksinov, furanov in PCB v krmi in živilih](#) (2006/88/ES)

Vir:

[http://www.mz.gov.si/si/zakonodaja\\_in\\_dokumenti/veljavni\\_predpisi/varnost\\_in\\_zdravstvena\\_ustreznost\\_hrane/on\\_esnazevala\\_v\\_zivilih\\_kontaminanti\\_v\\_zivilih/dioksini\\_in\\_dioksinu\\_podobni\\_pcb/](http://www.mz.gov.si/si/zakonodaja_in_dokumenti/veljavni_predpisi/varnost_in_zdravstvena_ustreznost_hrane/on_esnazevala_v_zivilih_kontaminanti_v_zivilih/dioksini_in_dioksinu_podobni_pcb/) (19.1.2019).

### **Za dioksine v emisijah v zrak in odpadne vode velja:**

- Uredba o emisiji snovi v zrak iz sežigalnic odpadkov in pri sosežigu odpadkov (Uradni list RS, št. [50/01](#), [56/02](#), [84/02](#), [41/04](#) – ZVO-1, [76/10](#) in [8/16](#))

### **Za dioksine v živilih velja:**

Pravilnik o postopkih vzorčenja in analitskih metodah za določanje dioksinov in dioksinu podobnih polikloriranih bifenilov v živilih (Uradni list RS, št. [134/03](#) in [56/05](#))

Vir: <http://pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=PRAV4402> (19.1.2019).

## **Pomen Stockholmske konvencije o obstojnih organskih onesnaževalih**

»Pogodbenice te konvencije:

- se zavedajo, da imajo obstojna organska onesnažila toksične lastnosti, so težko razgradljiva, se koncentrirajo z bioakumulacijo in se prenašajo po zraku, po vodi in s selitvenimi vrstami čez mednarodne meje in se odlagajo daleč od kraja izpusta, kjer se akumulirajo v kopenskih in vodnih ekosistemih,
- se zavedajo zdravstvenih težav, zlasti v državah v razvoju, ki so posledica lokalne izpostavljenosti obstojnim organskim onesnaževalom in zlasti učinkov na ženske ter preko njih na prihodnje generacije,
- priznavajo, da so zlasti ogroženi arktični ekosistemi in revne skupnosti zaradi biomagnifikacije obstojnih organskih onesnaževal in da je onesnaženje njihove tradicionalne hrane vprašanje javnega zdravja,
- se zavedajo potreb po globalnih ukrepih v zvezi z obstojnimi organskimi onesnaževali« (Vir [http://www.uk.gov.si/fileadmin/uk.gov.si/pageuploads/pdf/POPs\\_prevod.pdf](http://www.uk.gov.si/fileadmin/uk.gov.si/pageuploads/pdf/POPs_prevod.pdf)).

## 5. REPRODUKTIVNI SISTEM PRI ČLOVEKU

Reproduktivni sistem človeka (humana reprodukcija) je proces, pri katerem združitve ženske in moške gamete omogoča razvoj novega organizma. O spolnem razmnoževanju govorimo, ko se jedri dveh gamet združita in iz tega nastane novo življenje. Z združitvijo jeder gamet dveh staršev nastane pri potomcu nova kombinacija kromosomov. Da lahko razumemo in proučujemo reprodukcijski sistem ter negativne vplive nanj, je pomembno, da spoznamo njegovo zgradbo in delovanje (sliki 6 in 8). Spolovila torej služijo vzdrževanju rodu. V ta namen proizvajajo specifične spolne celice; moška semenčice (spermije), ženska pa jajčeca (oocite). Bistveni del spolovil so spolne žleze – gonade. Moška spolna žleza je moda (*testis*), ženska spolna žleza je jajčnik (*ovarium*). Moda in jajčniki so parni organi (Schettler in sod., 1999)

### 5.1. Ženski spolni organi

#### **Jajčnik (*ovarium*)**

Jajčnik je spolna žleza mandljaste oblike, zgrajen je iz skorje in sredice. V skorji je okrog 400.000 jajčnih mehurčkov – foliklov, kjer dozorevajo jajčeca od pubertete do menopavze. Proizvaja tudi hormone (estrogen in progesteron), ki stimulirajo dozorevanje jajčec. Jajčnik ob ovulaciji nekoliko zakrvavi, kri zalije razpočeni mehurček – rdeče telesce. Razpočeni mehurček se 4-5 dni po ovulaciji spremeni v rumeno telesce, ki je začasna endokrina žleza.

**Estrogen (foliklov hormon):** vzpodbuja rast in obnavljanje maternične sluznice, rast mišičja in žleznih izvodil v dojkah ter vpliva na druge spolne organe. Sproži dozorevanje jajčnih celic in krčenje maternice.

**Progesteron:** je hormon rumenega telesca, proizvajata ga nadledvična žleza in v nosečnosti posteljica. Pripravlja žensko na nosečnost.

#### **Jajcevod (*tuba uterina*)**

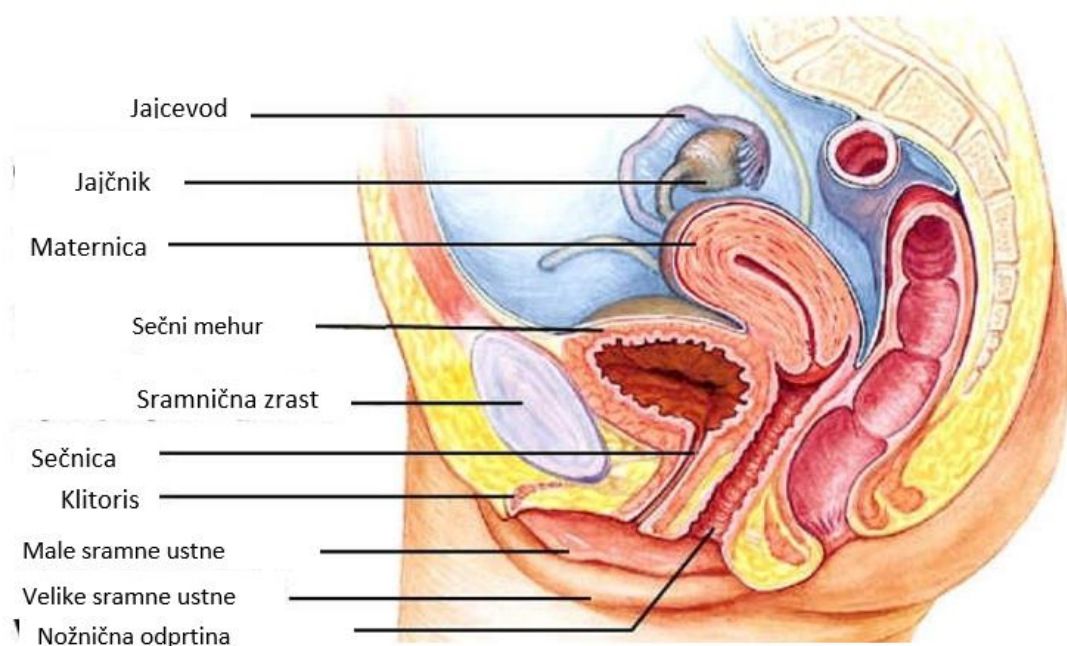
z migetalkami poraščen kanal, ki vodi oocite od jajčnika do maternice. Tu se ponavadi izvrši oploditev. Jajčece navadno potuje 5-6 dni.

#### **Maternica (*uterus*)**

Prostor kjer se razvija embrio. Je hruškaste oblike, dolga približno 8 centimetrov. Stena maternice je močna, elastična in zelo raztegljiva (slika 7).

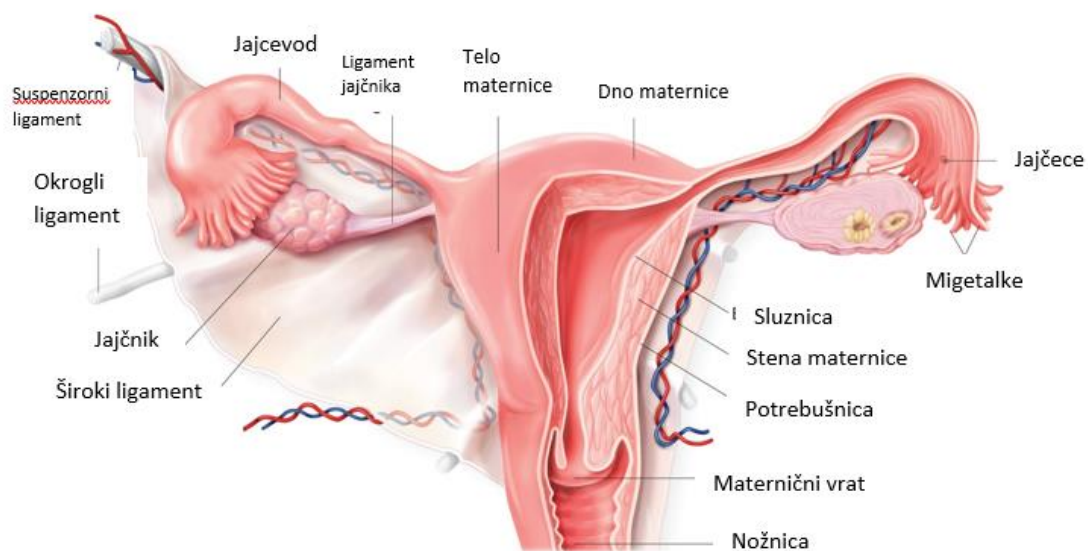
#### **Nožnica (*vagina*)**

Po njej pride embrio na svet. Je približno 10 centimetrov dolga mišičasta cev. Je iz gladkih mišic, v notranjosti je sluznica, ki nima žlez, sluz prihaja iz maternice. Zapirata jo sramni ustni proti maternici pa kožna guba, ki se imenuje deviška kožica (*hymen*).



Slika 6: Ženski reproduktivni organi

Vir slike 6 (povzeto po): <https://diagramchartspedia.com/female-reproductive-system-labeled/female-reproductive-system-labeled-well-labeled-diagram-of-internal-female-reproductive-organ/> (9.1.2019).



Slika 7: Maternica (uterus)

Vir slike 7 (povzeto po): <https://anatomy-medicine.com/endocrine-system/101-the-uterus.html> (9.1.2019).

## 5.2. Moški spolni organi

Moški spolni organi proizvajajo spermije in jih vnašajo v žensko telo. Zunanje spolovilo predstavljata mošnja (*scrotum*) in spolni ud (*penis*). Mošnja je kožna vreča v kateri so testisi, kjer nastajajo semenčice. Ker so le te zelo občutljive na višjo temperaturo, ležijo testisi izven telesa (sliki 8 in 9).

### **Spolni ud (*penis*)**

Sestavljajo ga 3 dolga brecila, ki nabreknejo. Zgoraj sta dve brecili, pod njima pa je še spodnje brecilo po katerem poteka sečnica. To brecilo je spredaj razširjeno v glavico, ki ima na vrhu ustje sečnice. Glavico prekriva kožna guba.

### **Moda (*testisi*)**

Parni žlezi, ki ležita v ohlapni kožni vreči – modniku oz. mošnji. V teh žlezah nastajajo semenčice in spolni hormoni. Moda so obdana s čvrsto ovojnico, v notranjosti pa so semenski kanalčki, kjer se porajajo gibljive semenčice. Kanalčki se stekajo v obmodek (slika 9).

### **Obmodek (*epididymis*)**

Je gost preplet močno zavitih kanalčkov v katerih se začasno shranjujejo semenčice, preden pride do izliva semena – ejakulacije. Cevke so združijo v semenovod.

### **Semenovod (*ductus defens*)**

Iz modnika gre čez dimeljski kanal v malo medenico čez semenjak in prostato, kjer se zlije s sečnico. Je iz gladkih mišic, v notranjosti je migetalčasta sluznica.

### **Semenjak (*vesicula seminalis*)**

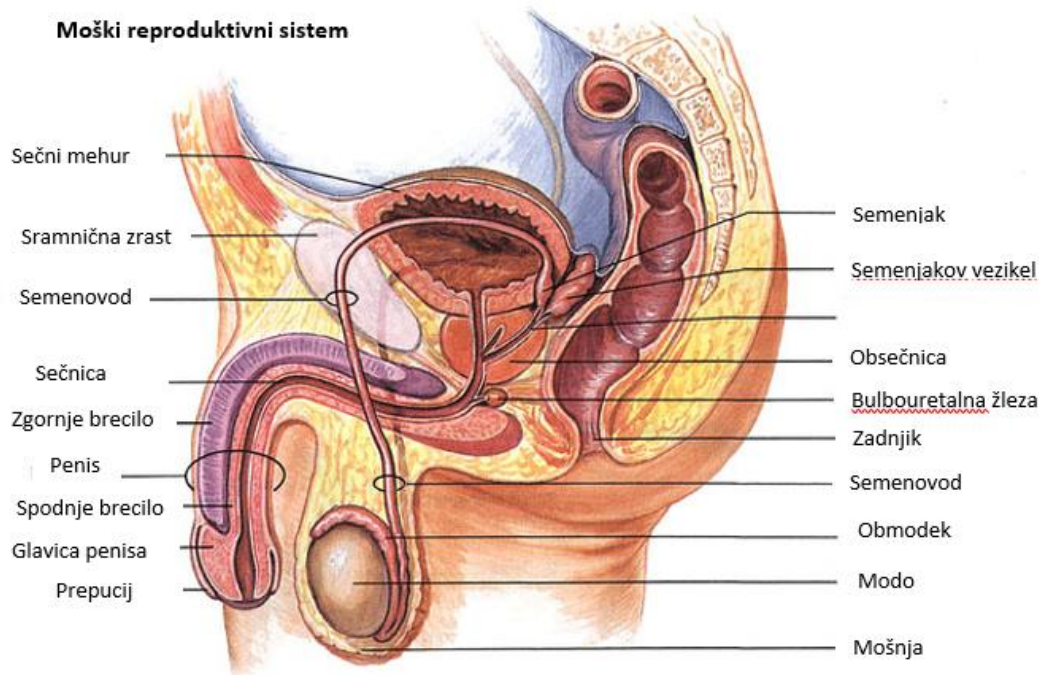
Žlezi veliki kot grozd, ležita za sečnikom, v njih se nabira seme pred izbrizganjem.

### **Obsečnica (*prostata*)**

Žleza, ki leži ob začetnem delu sečnice in jo obdaja. Ob ejakulaciji izloči gosto belkasto bazično tekočino, ki omogoča gibanje semenčicam.

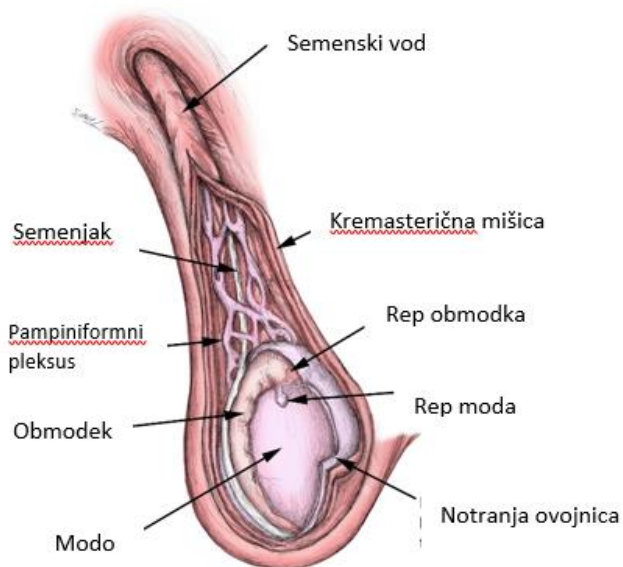
### **Bulbouretalna žleza**

Ena od para žlez, ki izloča mazavo sluz, s katero vlaži sluznico sečnice pred izbrizganjem.



Slika 8: Moški reproduktivni organi

Vir slike 8 (povzeto po): <https://anatomy-medicine.com/the-male-reproductive-system/168-the-male-reproductive-system.html> (9.1.2019).



Slika 9: Prerez moda

Vir slike 9 (povzeto po): <http://bimo.unpasoadelante.co/human-testis-size/> (9.1.2019).



### 5.3. Spolni hormoni

Spolne hormone uvrščamo v tri sledeče skupine:

- **androgeni**
- **estrogeni**
- **progesteroni**

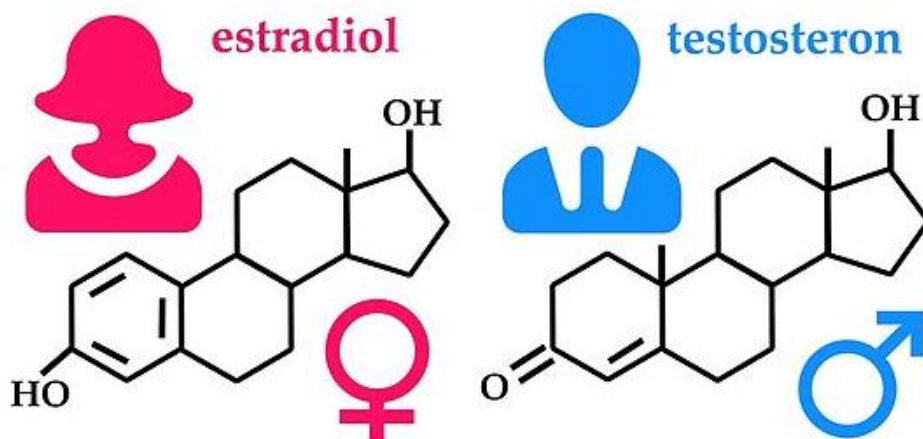
Delež hormonov je glede na spol značilno razporejen. Če prevladujejo androgeni, se razvijajo značilnosti moškega spola, če prevladujejo estrogeni in progesteron pa se razvijajo značilnosti ženskega spola.

#### Moški spolni hormoni (androgeni)

Nastajajo predvsem v modih. Najpomembnejši androgen je testosteron. Če prevladujejo androgeni, nastanejo moške značilnosti.

#### Ženski spolni hormoni

Najvažnejši ženski spolni hormoni so estrogen, progesteron, prolaktin, folikel stimulirajoči hormon (FSH) in luteinizirajoči hormon. Jajčniki proizvajajo dva najvažnejša hormona; estrogen in progesteron, ki sta odgovorna za sposobnost reprodukcije in vzdrževanja hormonskega ravnovesja.



Slika 10: Hormona estradiol (levo) in testosteron (desno).

Vir slike 10 (povzeto po): <https://www.redbubble.com/de/people/orvalrochefort/works/26265113-mann-frau-hormone-estradiol-testosteron?p=poster> (1.4. 2019).



## 5.4. Endokrini sistem

»Hormoni so snovi, ki se z dražljaji izločajo iz specifičnih celic oz. žlez v telesne tekočine preko posebnih prenosov in potujejo v druge (tarčne) celice v telesu kjer nadzorujejo njihovo delovanje« (*Hrvatska enciklopedija*). Endokrini oz. hormonski sistem je sistem žlez notranjim izločanjem (endokrinih žlez), ki sintetizirajo kemične prenašalce – hormone. Po klasičnem konceptu se hormoni proizvajajo v endokrinih žlezah, ki svoje produkte sproščajo neposredno v kri. Vendar so v zadnjem času odkrili veliko drugih celic s hormonskim delovanjem, ki se ne pojavljajo v endokrinih žlezah, vendar v drugih organih brez primarne endokrine funkcije (npr. želodec, tanko črevo, hipotalamus, srce, ledvice). Takšnim hormonom pravimo tudi tkivni ali lokalni hormoni. Dandanes se v laboratorijih sintetizirajo številni hormoni in spojine s hormonsko aktivnostjo, kar močno poveča možnost njihove terapevtske uporabe. Glavne endokrine žleze in njihovi najpomembnejši hormoni so: **adenohipofiza** (rastni hormon, adenokortikotropni hormon, tireotropni hormon, folikelstimulirajoči hormon, luteinizirajoči hormon, prolaktin), **nevrohipofiza** (antidiuretični hormon, vazopresin, oksitocin), **ščitnična žleza** (tiroksin, trijodotironin, kalcitonin), **obščitnica** (adrenalin, norepinefrin), **testisi** (testosteron), **jajčniki** (estrogen, progesteron), **posteljica** (estrogeni, progesteron, humani horijev gonadotropin, horijev mamotropin), **nadledvična žleza** (adrenalin, noradrenalin), **trebušna slinavka** (inzulin, glukagon). K hormonom se pogosto prišteva tudi vitamin D (*Hrvatska enciklopedija*, <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=26145>)

Med hormoni, ki se pojavljajo v drugih organih, je pomembna skupina prebavnih hormonov (gastrin, sekretin). Hormoni v veliki meri vplivajo tudi na presnovne procese v telesu. Sem spadajo nastajanje, poraba in shranjevanje energije. Prav tako je njihova naloga ohranjanje ravnotežja različnih ionov in vode, vpliv na rast in razvoj ter tudi uravnavanje reproduktivne funkcije. Hormoni skupaj z živčnim sistemom omogočajo komunikacijo med množico različnih celic v telesu, s čimer usklajujejo delo posameznih organov in usklajujejo stabilnost delovanja telesa, kljub stalnim spremembam v okolju. Hormoni, ki krožijo v krvi v ekstremno majhnih koncentracijah so osnova za normalno reprodukcijo. Lahko so proteinske ali steroidne narave. Glede na kemijsko zgradbo, se hormoni razvrščajo v tri glavne skupine: derivate aminokislin, peptide in beljakovine, ter steroidne hormone. Do oddaljenih tarčnih celic lahko preko krvnega obtoka potujejo prosti (peptidni in beljakovinski hormoni) ali vezani z beljakovinskimi prenašalci (steroidni hormoni). Hormoni so prenašalci informacij in delujejo le na ciljne organe, kjer se vežejo na receptorje – kar v celici povzroči biokemično reakcijo. Njihova sposobnost, da vplivajo na notranje biokemično delovanje celice je torej odvisna od vezave na receptorje. Nekateri hormoni so dovolj lipofilni, da prehajajo preko celične membrane (kjer se najprej vežejo na receptor) in tako delujejo neposredno na jedro. »Endokrini sistem je eden od pglavitnih dejavnikov nadzora v telesu in se od drugih sistemov razlikuje po tem, da med seboj ni anatomsko povezan« (*Hrvatska enciklopedija*).

## 6. NEPLODNOST

Glede na merila Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) je neplodnost definirana kot bolezen reproduktivnega sistema, ki onemogoča spočetje po najmanj 12 mesecih nezaščitenih rednih spolnih odnosov. Fekundabilnost je verjetnost zanositve v določenem časovnem obdobju. Najpogosteje je izražana kot verjetnost zanositve v enem menstruacijskem ciklusu. Odvisna je od številnih bioloških procesov. Čeprav so ti procesi odvisni od genetskih predispozicij partnerjev in morebitnih pridruženih bolezenskih stanj, imajo lahko na reprodukcijske sposobnosti pomemben vpliv tudi življenjski slog, socialni dejavniki in dejavniki okolja (Knez, Vlaisavljević, 2016).

Rodnost prikazuje število otrok, ki jih ženska rodi v svojem celotnem reproduktivnem obdobju. Večina držav razvitega sveta beleži povprečno rodnost med ena in tri. Povprečna rodnost, ki je nižja od dve, kaže na negativen demografski trend določene populacije. Izračunana rodnost v Sloveniji je leta 2011 znašala 1,56. Ocenjuje se, da približno 84 % žensk zanosi v enem letu nezaščitenih rednih spolnih odnosov, po dveh letih pa ta odstotek naraste na približno 92 %.

Prevalenco neplodnosti v razvitem svetu ocenjujejo na 15 – 17 % parov (v Sloveniji 15 %), kar pomeni, da približno 1 od 6 parov išče pomoč zaradi težav s spočetjem. Vzrok neplodnosti je lahko samo pri ženski, samo pri moškem ali pri obeh, lahko je tudi neznan. Neplodnosti je torej problem, ki se pojavlja po vsem svetu, ni pa enakomerno porazdeljen. Razlike se pojavljajo celo v manjših geografskih območjih.

Zadnja leta v zahodnih državah naraščajo predvsem 3 vzroki neplodnosti:

- 1.) starost - ki je še vseeno najpomembnejši dejavnik za zmanjšanje plodnosti,
- 2.) zvečanje števila spolno prenosljivih bolezni,
- 3.) zvečanje števila endometrioz.

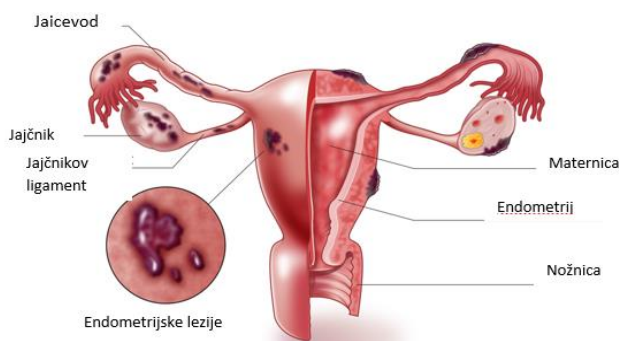
Številni okoljski dejavniki lahko negativno vplivajo na zmanjšano plodnost človeka (Joffe, 2003). Tako lahko nekatere kemikalije, konzervansi in ionizirajoče sevanje škodijo reproduktivni sposobnosti človeka. V nadaljevanju bo bolj podrobno opisana skupina substanc »endokrinih motilcev« (tudi dioksini in furani), ki lahko motijo hormonsko homeostazo organizma in tako posledično negativno vplivajo tudi na reproduktivno funkcijo. Primer so estrogene substance, ki proizvajajo presežek estrogena glede na raven testosterona.

Seznam škodljivih snovi je dolg in industrija se pri tem trudi da naredi vse, da bi nevarnost prikrla. Evropska komisija na podlagi Uredbe o registraciji, evalvaciji, avtorizaciji in omejevanju kemikalij (Reach) lahko prepoveduje uporabo, proizvodnjo in prodajo določene kemikalije. Lobisti industrije so pri pogajanjih o Uredbi Reach dosegli, da spornih snovi ne bo mogoče povsem prepovedati. Podjetja, ki jih bodo želela še naprej uporabljati, bodo morala dokazati, da so sprejela zahtevane varnostne ukrepe za ustrezen nadzor tveganj ali da so koristi uporabe večje od tveganj. Kadar so na voljo nadomestne snovi ali nove tehnike, bodo podjetja morala predložiti tudi časovni načrt za zamenjavo spornih snovi. Tudi v Evropski komisiji so s podatki o prepovedanih kemikalijah precej skopi. Podatki o uporabi se pošiljajo le na izrecno zahtevo (Pavčič, 2018).

## 6.1. Endometrioza

Endometrioza je pojav tkiva s histološkimi in funkcionalnimi značilnostmi endometrija (sluznice maternice) zunaj maternične votline (slika 11). Tako kot v maternici je tudi tkivo endometrioze pod vplivom hormonskih sprememb in se podobno ciklično odziva na hormone. Prav tako se tudi izven maternice odebeli, odlušči in zakrvavi, vendar kri ne more odtehati, ker nima izhoda. To privede do zarastlin, cist in lokalnih vnetij (slika12), ki lahko povzročajo zelo močne in hude bolečine (Scialli, 2001). Endometrioza je bolezen, ki se najpogosteje izraža v reproduktivnem obdobju ženske. Prevalenca endometrioze v razvitem svetu je ugotovljena na podlagi obsežnih epidemioloških raziskav in vse ugotavljajo, da prizadene vsako 10. žensko, torej 10 % kar znaša približno 176 milijonov žensk. V Sloveniji ni bila narejena še nobena epidemiološka raziskava v povezavi z endometriozo, zato se pogostost ocenjuje na podlagi strokovnih epidemioloških raziskav razvitega sveta in pomeni okrog 30.000 do 40.000 žensk. Prisotna naj bi bila tudi pri do 50 % žensk, ki se soočajo z neplodnostjo. Endometrioza predstavlja hudo ekonomsko breme, ki vodi k visokim stroškom zdravljenja in izgubo produktivnosti.

Čedalje pogosteje omenjajo možnost, da k nastanku te bolezni pripomorejo bolj dejavniki okolja, kot pa genetski dejavniki. V študijah so velikokrat omenjeni dioksini, ki so v diplomski nalogi podrobneje predstavljeni.



Slika 11: Endometrioza

Vir slike 11 (povzeto po): <https://www.ranzcog.edu.au/Womens-Health/Patient-Information-Resources/Endometriosis> (12.1.2019).



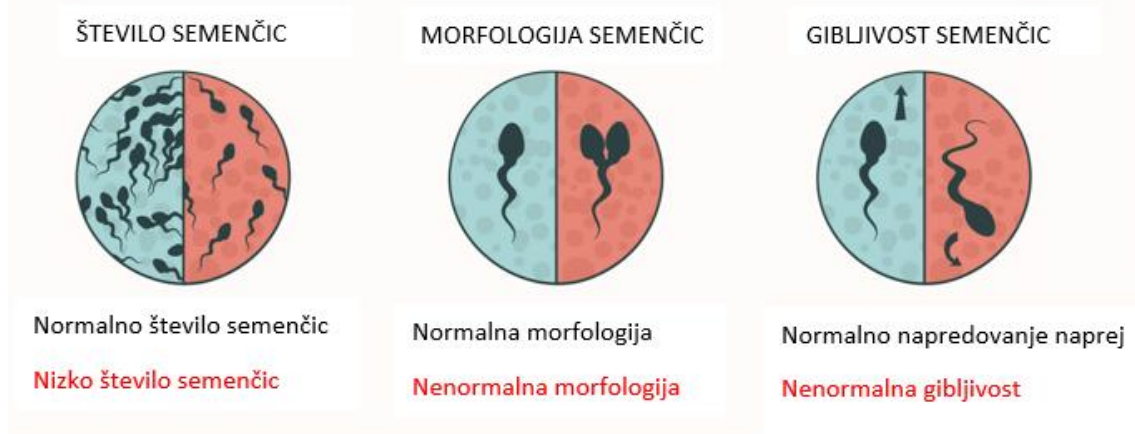
Slika 12: Simptomi endometrioze

Vir slike 12 (povzeto po): <https://www.ranzcog.edu.au/Womens-Health/Patient-Information-Resources/Endometriosis> (12.1.2019).

## 6.2. Moška neplodnost

Moškega iz neplodnega para pregledujejo skupaj s partnerico. Pri 50 - 60 % neplodnih parov je vzrok za neplodnost pri moškem (pri 30 % parov samo pri moškem, pri 20 – 30 % pri moškem in pri ženski). Poleg telesnega pregleda vsebuje klinična obravnava neplodnega moškega tudi analizo semena, merjenja hormonov, slikovno diagnostiko in histologijo mod. Na podlagi tega odkrijejo vzrok za neplodnost pri 60 % moških, pri 30 % pa ne; kljub normalnemu spermogramu pri 10 % neplodnih moških odkrijejo nepravilnosti v funkciji semenčic z dodatnimi testi. Do danes je znanih več kot 600 kemikalij, ki so povezane s slabo kakovostjo semena. Toksičen vpliv imajo na genetiko in epigenetiko semenčic, saj v modu škodljiv učinek prizadene Leydigove, Sertolijeve in germinalne celice. Toksičnost se kaže tudi v nepravilnem delovanju endokrinega sistema (Zorn, 2016).

Mednarodna študija, ki jo je izvajal Hagai Levine s sodelavci na Hebrejski univerzi v Jeruzalemu je razkrila, da se je pri moških, ki živijo v deželah razvitega sveta, število spermijev v zadnjih štirih desetletjih zmanjšalo za več kot polovico. Skupina raziskovalcev, ki jih je vodil dr. Levine, je pregledala več tisoč študij, ki so raziskovale število semenčic pri moških iz Evrope, Severne Amerike, Avstralije in Nove Zelandije v obdobju med letoma 1971 in 2011. Podatki kažejo, da je omenjenem obdobju število spermijev padlo z 99 milijonov na mililiter semenske tekočine na le 47 milijonov. V raziskavi je bilo zajetih okoli 43.000 moških, ki pa niso nujno neplodni, saj je njihova koncentracija semenčic še dosegala merila za plodnost, ki jih določa svetovna zdravstvena organizacija – kar znaša 40 milijonov semenčic na mililiter semenske tekočine. Če se upošteva število semenčic, njihova gibljivost in oblika, je vedno manj pacientov, ki imajo ustrezne vse tri parametre (slika 13) (Levine in sod., 2017).



Slika 13: Vzroki moške neplodnosti

Vir slike 13 (povzeto po): [https://www.rmanj.com/male-infertility-everything-you-need-to-know/shutterstock\\_728236384-1/](https://www.rmanj.com/male-infertility-everything-you-need-to-know/shutterstock_728236384-1/) (19.1.2019).

## 7. MOTNJE DELOVANJA ENDOKRINEGA SISTEMA

Po definiciji so endokrini motilci snovi, ki so biološko aktivne in ki že v zelo majhnih koncentracijah spremenijo delovanje endokrinega sistema. Natančneje rečeno motijo proizvodnjo, sproščanje, transport, metabolizem, vezavo in delovanje hormonov v telesu, s tem pa vplivajo na ohranjanje notranje homeostaze, celično presnovo, vedenje, razvoj in plodnost človeka ter živalskih vrst. Princip motenja endokrinega sistema je leta 1993 prva predstavila Theo Colborn s sodelavci (Colborn in sod., 1993). Po poročilu Ameriške agencije za varstvo okolja danes obstaja 87.000 možnih endokrinih motilcev, kamor spadajo tudi dioksini in furani. Med temi snovmi prevladujejo industrijske kemikalije (75.500), 900 aktivnih in 2.500 pomožnih snovi v pesticidih, ter dodatki v kozmetiki in živilih (8000). Škodljive učinke imajo lahko tako naravne kot tudi sintetične snovi (Colborn, 2003).

V skupino sintetičnih kemikalij, ki motijo hormonski sistem sodijo klorirani pesticidi, industrijske kemikalije in njihovi stranski produkti (poliklorirani bifenili – PCB, dioksini, furani, ...), sestavine plastike (bisfenol A-BPA, ftalati), goriva, zaviralci ognja, detergenti (alkilfenoli), humana in veterinarska zdravila in še mnoge druge kemikalije, saj je število iz leta v leto višje.

Omenjene snovi se sproščajo v okolje med proizvodnjo, z rabo in odlaganjem, predvsem na neurejenih odlagališčih. Najbolj prizadeti ekosistemi so celinske vode. Pomemben vnos predstavljajo tudi izpusti iz komunalnih čistilnih naprav, saj se pri čiščenju odpadnih vod endokrini motilci le delno ali pa sploh ne odstranijo (Pavčič, 2018).

### 7.1. Ukrepi za omejitev škodljivega delovanja hormonskih motilcev

Hormonski motilci so običajno zelo obstojne snovi. V naravnem okolju se koncentracija hormonskih motilcev zmanjšuje s fotolizo, fotooksidacijo, redukcijo, hidrolizo in s hlapnostjo, kar vse poteka zelo počasi. Obstajajo tudi nekateri mikroorganizmi, ki lahko posamezne hormonske motilce razgradijo na manj strupene presnovke. Lahko se zgodi tudi obratno, pri čemer pride do aktivacije nove spojine z večjo strupenostjo. Zato je treba stremeti k temu, da je okolju čim manj motilcev. Ker je današnja razširjenost hormonskih motilcev predvsem posledica industrijskega razvoja je potrebno proizvodnjo hrane, kozmetike in predmetov splošne rabe preurediti tako, da bo njihova vsebnost čim nižja, kar ni lahka naloga.

Evropska agencija za varnost hrane (EFSA), je v letu 2013 ocenila zdravstvene posledice uporabe endokrinih motilcev na povprečno 157 milijard evrov oz. 1,23 % bruto domačega proizvoda letno. Zato je priporočila drastično zmanjšanje njihove uporabe v evropski uniji. Tako je naletela na oster upor kemijskega in agrarnega lobija, ne le v Evropi ampak še posebej v ZDA in med multinacionalkami, ki so v pogajanjih od Evrope zahtevale, da se odrečejo svojim odločitvam. Ne glede na ta pogajanja v Evropi skušajo zaježiti uporabo hormonskih motilcev na več načinov.

Do neke mere pri tem lahko pomagajo predpisi o prepovedi uporabe določenih hormonskih motilcev (npr. fitofarmaceutskih sredstev v kmetijstvu, aditivov pri proizvodnji hrane, kozmetike in predmetov splošne rabe – ftalatov v otroških dudah, ...) in predpisi o maksimalno dovoljenih količinah onesnaževal, ki pa so dvomljivi, saj lahko škodo povzroči že količina snovi, ki je pod mejo detekcije (Pavčič, 2018).

Nekateri proizvajalci, ki so družbeno odgovorni, so začeli prostovoljno spreminjati sestavo proizvodov, tako da ne vsebujejo več hormonskih motilcev. Različne potrošniške organizacije so prav tako začele potrošnike obveščati o nevarnostih prisotnosti in uporabe proizvodov, ki vsebujejo hormonske motilce.

## 7.2. Mehanizmi delovanja hormonskih motilcev

Snovi, ki delujejo kot hormonski motilci imajo tri različne mehanizme delovanja:

- 1.) Hormonski motilec lahko oponaša ali blokira tvorbo endogenih hormonov. Kadar je kemikalija dovolj podobna naravnemu hormonu, lahko zasede mesto vezave na receptor in sproži podoben niz dogodkov kot naravni hormon. Z oponašanjem povzroča hormonu podoben učinek. V nekaterih primerih lahko zasede mesto na receptorju, a ni sposoben sprožiti biokemičnega odziva. Z vezavo učinkovito blokira receptor.
- 2.) Hormoni se prenašajo s krvnim obtokom in so vezani na nosilne proteine. Hormonski motilci lahko omejujejo število prostih mest za vezavo. Stopnja, do katere se hormon veže na receptor, je delno odvisna tudi od koncentracije nosilnih proteinov. Hormonski motilci lahko spremenijo tudi koncentracijo teh proteinov ali vplivajo na vezavo hormona na nosilec. Npr. nekateri insekticidi odstranijo testosteron iz proteinskega nosilca ter tako potencialno zmotijo dostavo hormona do celic (Pavčič, 2018).
- 3.) Izpostavljenost hormonskim motilcem lahko vpliva tudi na sintezo hormonov, ter na število in vrsto hormonskih receptorjev (Colborn, 2003).

Le redko samo en motilec vpliva na nastanek bolezni. Običajno imamo opravka z več motilci (mešanico), ki delujejo tako, da se učinek povečuje ali je celo sinergističen. Njihov učinek je odvisen od količine, vendar lahko že katerakoli sled motilca povzroči hormonske in reproduktivne nepravilnosti. Stvar je zelo zaskrbljujoča, saj so zaenkrat vsi predpisi, ki omejujejo vsebnosti endokrinih motilcev v hrani, vodi, kozmetiki, embalaži in predmetih splošne rabe naravnani na tisto količino, ki jo še zaznava laboratorijska oprema. Dokazi pa potrjujejo, da škodo lahko povzročijo tudi mnogo nižje vrednosti (Pavčič, 2018).

## **Vplivi endokrinih motilcev na endokrini sistem**

Endokrini motilci spremenijo delovanje endokrinega sistema tako da:

- oponašajo naravne hormone (npr. spolne hormone) in tako sprožajo podobne procese v telesu ter posledično povzročijo prekomerno stimulacijo,
- se lahko vežejo na receptorje za hormone in na ta način zavirajo delovanje naravnih hormonov, telo se ne more normalno odzvati na spremenjeno notranje ravnovesje,
- vplivajo na tvorbo in presnovo hormonov v jetrih in njihovo izločanje ter tako direktno spreminjajo njihovo koncentracijo v telesu.

Telo proizvede veliko različnih hormonov, vsakega s svojim lastnim receptorjem na površini ali znotraj celice. Da uveljavi svoj učinek, se hormon veže na receptor, kot se ključ prilega ključavnici. V normalnih okoliščinah ta vezava sproži niz dogodkov, ki privedejo do biokemične reakcije ali produkcije v celici. Hormonski motilci lahko motijo ta potek na različne načine in z različnimi mehanizmi. Hormone v splošnem delimo na tri kategorije, odvisno od njihove kemične strukture: na steroide, polipeptide in aminokisliline. Spolni hormoni iz jajčnikov in testisov so primeri steroidov.

## **8. REPRODUKTIVNA TOKSIKOLOGIJA**

Reproduktivni sistem je kompleksen, medsebojno povezan nabor organov, tkiv in hormonov, ki skupaj omogočajo rojstvo nove generacije (Schettler in sod., 1999). Žal se reproduktivni procesi odvijajo v onesnaženem okolju. Ne le struktura, pač pa tudi funkcija reproduktivnega sistema je lahko poškodovana ali onemogočena zaradi izpostavljenosti različnim okoljskim agensom. Reproductivni toksini imajo lahko direkten učinek na ovarije, testise ali druge kritične organe in povzročijo nepravilnosti pri ovulaciji, semenskem materialu in spremembe v količini in delovanju hormonov.

Spoznali smo normalno reprodukcijo in njeno delovanje, kjer smo videli, da je reprodukcijski sistem izredno natančno zasnovan, včasih pa tudi zelo ranljiv. Reproductivna toksikologija ima veliko edinstvenih in zahtevnih razlik od toksikologije drugih sistemov človeka, saj zahteva preiskovanje interakcij dveh osebkov oziroma para (Mattison in sod., 1990).

Katerikoli organi ali procesi, katerih koordinirana naloga je osnova za normalno reprodukcijo in nadaljnji razvoj oplojenega jajčeca, je možna tarča biološko aktivnih snovi. Toksične kemikalije lahko neposredno poškodujejo celično strukturo ali biokemične procese. Nekateri toksini sprožijo tvorbo encimov, ki preoblikujejo druge kemikalije v bolj strupene substance. Ta mehanizem pogosto pojasni, kako so lahko mešanice kemikalij škodljivejše od posameznih izpostavljanj (sinergistični učinek).

### **Učinki toksinov na jajčnike**

Katerikoli od osnovnih tipov celic v jajčniku je lahko poškodovan, če je izpostavljen biološko aktivnim snovem, kar potencialno vpliva na katerokoli od dveh osnovnih nalog jajčnikov: sintezo hormonov in ovulacijo. Zato, ker se vsaka ženska rodi z vsemi jajčnimi folikli v jajčnikih, ki bodo na voljo skozi njeno reproduktivno življenje, lahko kakršnakoli biološka aktivnost pripelje do njihovega poškodovanja (Schetler in sod., 1999). Dioksin kot potencialni induktor monooksigenaz jeter in jajčnikov, lahko spreminja rast foliklov pri spolno zrelih ženskah (Silbergeld in Mattison, 1987).

### **Učinki toksinov na testise**

Kemikalije, ki so toksične za testise lahko zmanjšajo število spermijev, poškodujejo semenčice ali vplivajo na tvorbo hormonov. Vsaka od različnih tipov celic je možna tarča. Poškodovane Leydigove celice lahko privedejo do zmanjšanega nastanka testosterona, medtem ko poškodovane Sertolijeve celice neposredno znižujejo število spermijev, ki so potrebne za zdravlje nedozorele sperme. Biološka aktivnost dioksinov je posredovana preko AhR/ARNT receptorskega kompleksa. Aktivacija AhR lahko pripelje do vnetja in oksidativnega stresa v semenski tekočini, kar vodi do poškodb DNK (Galimova in sod., 2014).

## **8.1. Načini delovanja reproduktivnih toksinov**

Reproduktivni toksini razvijejo svoje učinke z motnjami normalnega toka snovi, energije ali informacije znotraj ali med celicami ali organi v reproduktivnem sistemu. To lahko vključuje neposredno interakcijo z vitalnimi celičnimi komponentami ali procesi oz. motnjo endokrinih povezav, ki so ključne za reprodukcijo.

Reproduktivni toksini so lahko razdeljeni kot neposredno ali posredno delujoči glede na mehanizem delovanja. Neposredno delujoči reproduktivni toksini izzovejo svoje učinke zaradi svoje prirojene kemične reaktivnosti ali skozi strukturalno podobnost endogenim spojinam kot »nasprotniki«. Skratka toksične učinke izražajo skozi njihovo podobnost biološko podobnim molekulam. Te spojine tako imitirajo delovanje teh molekul npr. hormonov ali tekmujejo za receptorska mesta. S tem sprožijo neprimerne odzive ali blokirajo normalne odzive na ciljno celico ali organ (Mattison, Thomford, 1989).

Eden od najboljših primerov takih spojin je kombinirano kontracepcijsko sredstvo (estrogen in progesteron), ki vpliva na normalno delovanje jajčnika tako, da zavira izločanje gonadotropina.

Posredno delujoči toksini pa vplivajo na reproduktivno funkcijo z metaboličnim delovanjem ali s spreminjanjem normalne endokrine homeostaze (Mattison in sod., 1990). Biološki mehanizmi, ki so osnovni za reproduktivno toksičnost, so zapleteni in vključujejo absorpcijo, porazdelitev, presnovo, izločanje in mehanizme poprave.



Toksini delujejo tako, da motijo tok snovi, energije, ali informacij, ki so potrebne za normalno delovanje celic, organov ali organizmov. Spojina mora biti usmerjena v ciljni organ (gonado, hipotalamus, hipofizo, maternico, obmodek, jetra itd.), kjer se izrazi stranski učinek.

Nekateri reproduktivni toksini delujejo neposredno in se morajo presnoviti preden pride do strupenega učinka. Metabolit pa nato izrazi toksičen učinek. Drugi neposredno delujoči reproduktivni toksini lahko vplivajo na reprodukcijo s povzročanjem sprememb v fiziološkem nadzornem mehanizmu (sprožitev ali zaviranje encimov). Možno pa je tudi, da reproduktivni toksini sprožijo stranske učinke preko več različnih mehanizmov.

### **Mehanizmi razstrupljanja**

V točki, ko celice niso več sposobne normalne komunikacije, sprejemanja hranil in izločanja metabolitov, nastopijo mehanizmi razstrupljanja. Mehanizmi razstrupljanja so odvisni od narave ksenobiotika in velikosti tarče. Navadno potekajo v več fazah: 1. encimska transformacija (pretvorba topnih snovi v lipidih v bolj vodotopne), 2. encimska konjugacija (dodatno povečanje vodotopnosti, zmanjšanje reaktivnosti produktov faze 1), 3. transport (izločanje vodotopnih snovi iz celice). Elementi razstrupljevalnih sistemov so glavne tarče reproduktivnih toksinov (Liska, 1998).

### **Popravljalni mehanizmi**

Čeprav ima celica mehanizme za razstrupljanje, v nekaterih primerih ti mehanizmi niso dovolj učinkoviti in pride do poškodb celice, organov ali organizma. Ko pride do škode, ki jo povzročijo toksini, je možna poprava. Popravljalni mehanizem je lahko nova ali povečana sinteza proteinov, ki nadomesti nedelujoče proteine, ki jih je poškodoval toksin. Še bolj napredni popravljalni mehanizmi so se razvili pri poškodbah DNK. Ti mehanizmi vključujejo iskanje poškodb na DNK ter tudi encime za odstranitev in zamenjavo območja poškodovane DNK (Mattison in sod., 1989).

## 9. UGOTOVITVE

### Ugotovitev 1: V Sloveniji imamo uradno bazo podatkov, kjer lahko pridobimo podrobne informacije o dioksinih in furanih

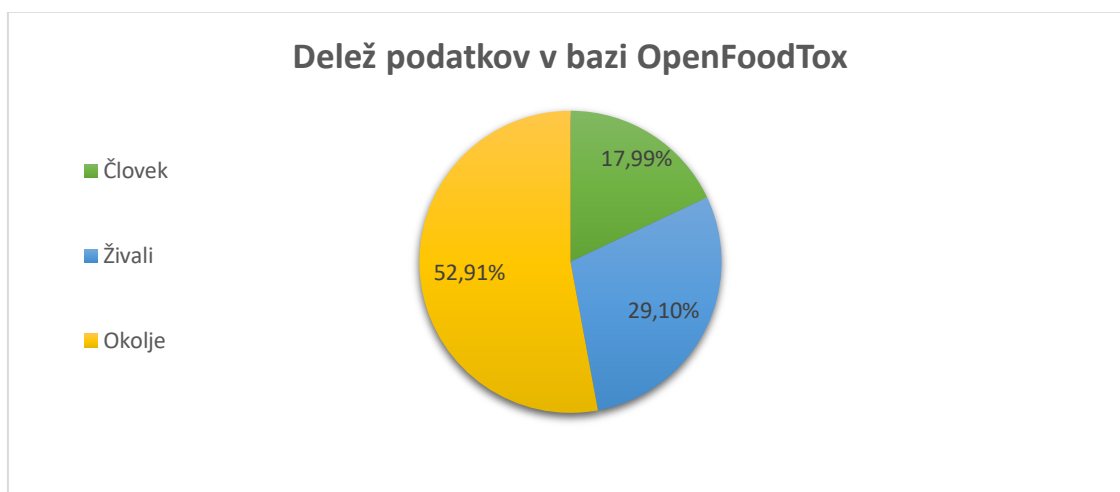
Obstaja razlika med raziskovalno toksikologijo in toksikologijo, ki jo zanimajo bolj regulativni postopki, kamor spadajo tudi baze podatkov. Pri naših raziskovalnih ustanovah na državnem nivoju gre bolj za standardizacijo kemikalij (Urad RS za kemikalije), kjer delajo tudi ocene tveganja v smislu, da določeno kemikalijo še pustijo na trgu oz. jo umaknejo. Zato v Sloveniji za prepovedane snovi ni baze podatkov na nacionalni ravni temveč so prisotni zgolj podatki o teh snoveh, ki so nastali, ko so bili v povezavi z njimi inštituti vključeni v razne projekte. (*Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Oddelek za okolje in zdravje Maribor, moj osebni pogovor po telefonu z dr. Borisom Kolarjem, 7.1. 2019*).

Če primerjamo s tujino, je Evropska agencija za varno hrano razvila učinkovito spletno platformo OPENFOODTOX (sliki 14 in 15), ki vsebuje informacije o onesnaževalih v hrani in krmi, ter je nekakšen približek bazi, ki sem jo iskala pri nas. Platforma vsebuje osnovne podatke o lastnostih dioksinov in furanov, molekulske formule, reference, podatke o toksičnosti in identifikacijske številke. Na sliki 14, je predstavljen primer reproduktivne toksičnosti za podgane.

Substanca	Avtor	Leto	ID	Smer	Tip	Vrsta	Končna točka	Vrednost	Učinek	Toksičnost
2,3,7,8-TCDD	EFSA CONTAM	2011	83	humano zdravje	repr. toksičnost	podgana	LOAEL - najnižja priporočena raven, kjer so opaženi učinki	25 ng/kg/dan	obnašanje	reproduktivna

Slika 14: Podatek o reproduktivni strupenosti 2,3,7,8 – TCDD za podgane

Vir slike 14 (povzeto po): <https://www.efsa.europa.eu/en/data/chemical-hazards-data> (17.1. 2019).



Slika 15: OpenFoodTox vsebuje največ podatkov s področja okolja, sledijo mu podatki o živalih in humani podatki

Vir slike 15 (povzeto po): <https://www.alfa-editores.com.mx/openfoodtox-base-de-datos-sobre-riesgos-quimicos-en-alimentos/> (17.1.2019).

## **Ugotovitev 2: Skupina dioksinov in dioksinu podobnih snovi spada med snovi, ki povzročajo endometriozo pri človeku**

Endometriozo ostaja pogost ginekološki problem, ki je povezan s številno obolevnostjo. Študije kažejo na to, da je endometriozo povezana z izpostavljenostjo dioksinom in dioksinu podobnim spojinam. Trenutni podatki dokazujejo, da lahko dioksin vpliva na patofiziologijo endometrioze z modulacijo imunske in endokrine funkcije. Zbrani dokazi podpirajo ugotovitev, da izpostavljenost dioksinu spodbuja endometriozo preko stimulacije kroničnega vnetja, kar lahko vodi do povečane sinteze estrogena in motnje progesteronsko odvisnih odzivov, ki običajno omejujejo razvoj endometrioze. Te ugotovitve so zelo pomembne za razumevanje humane endometrioze odkar je izpostavljenost splošne populacije tem spojinam dokumentirana v literaturi (Mayani in sod., 1997).

Eden od možnih mehanizmov, preko katerega dioksini vplivajo na endometriozo je preko indukcije neustrezne proizvodnje estrogena v endometriju. Endometrijske celice kažejo povečano ekspresijo P-450 aromataze. Dioksini torej lahko spodbudijo endometriozo preko indukcije izoencima P-450 in povečane tvorbe estrogenov (Rier, Foster, 2002).

### **Potencialni mehanizmi delovanja dioksina in podobnih spojin pri nastanku endometrioze:**

- 1.) Spremenjena sinteza in metabolizem estradiola
- 2.) Spremenjena produkcija rastnih faktorjev in citokinov
- 3.) Napačno izražanje encimov

Tarčni geni za delovanje dioksina so *CYP1B1*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2R1*, *CYP4V2* in drugi, ter geni za regulacijo rasti (Shery, Rier, 2008). Dioksin modulira različne sisteme hormonskih receptorjev, ki igrajo vlogo pri funkciji maternice vključno z estrogenskimi in progesteronskimi receptorji, receptorji za rastni faktor in prolaktinskimi receptorji. Poleg tega ta toksin spremeni delovanje estrogena v reproduktivnih organih na način, ki je odvisen od

starosti in specifičnosti ciljnega organa. Poleg učinkov na reproduktivni sistem dioksin deluje tudi na imunski sistem.

Znanstveniki z univerze Wisconsin (Madison, ZDA) so analizirali pojavnost endometrioze pri Rhesus opicah, ki so bile kronično izpostavljene dioksinom v obdobju okrog štirih let. Preiskovanih je bilo skupno dvajset živali, razdeljenih v tri skupine. Prva skupina ni bila izpostavljena dioksinom, druga skupina je bila izpostavljena dioksinom v koncentraciji 5 ppt (parts per trillion), tretja pa s koncentracijo 25 ppt. Deset let kasneje, po prejemanju koncentracij so preko kirurškega postopka laparoskopije ugotavljali prisotnost in stopnjo endometrioze.

V teh desetih letih so tri opice poginile, laparoskopija pa je pri vseh treh poginulih živalih pokazala težko stopnjo endometrioze (slika 16). Od sedemnajstih preživelih opic, ki so bile pregledane z laparoskopskim postopkom šest živali ni bilo izpostavljenih dioksinu. Pri teh šestih živalih ni bil najden niti en primer srednje težke ali težke endometrioze. Štiri živali so bile povsem zdrave, dve opici pa sta kazali znake blage endometrioze. Pogostost bolezni je v kontrolirani skupini znašala 33 %, kar je odgovarjalo splošni prevalenci endometrioze (30 %), pri 304 opicah, ki niso bile izpostavljene dioksinu. V skupini sedmih živali, ki so bile izpostavljene 5 ppt dioksina je bila srednje do težka stopnja endometrioze dokumentirana pri treh od sedmih živali (43 %) in blaga stopnja pri eni živali.

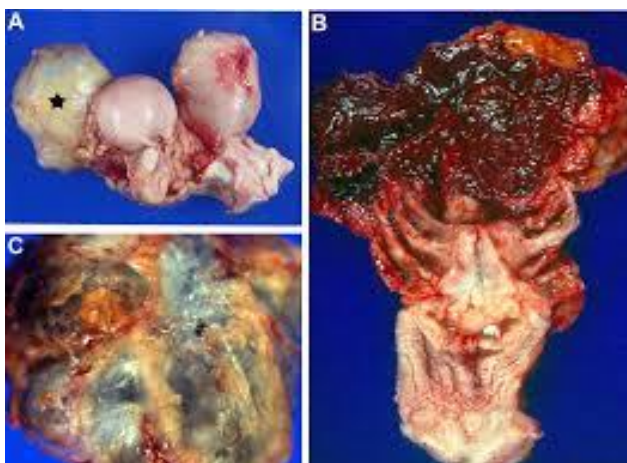
V skupini sedmih živali, ki so bile izpostavljene 25 ppt dioksina je bila najdena srednje težka stopnja endometrioze pri petih od sedmih živali (71 %) in blaga stopnja pri eni živali. Samo ena opica v tej skupini ni imela znakov bolezni.

Rezultati te študije kažejo neposreden vpliv kronične izpostavljenosti dioksinu na povečano pojavnost endometrioze pri Rhesus opicah. Stopnja te bolezni kaže pozitivno korelacijo z odmerkom dioksina.

Zanimiva je tudi reprodukcijska slika preiskovanih živali. Reprodukcijska funkcija opic, ki so bile izpostavljene 5 ppt dioksina se ni značajno razlikovala drugih. Šest od sedem opic je znotraj sedmih mesecev od prekinitve izpostavljanja dioksinu postajo brejih od tega pa jih je 5 skotilo živega mladiča in ena mrtvega. Pri skupini živali z odmerkom 25 ppt dioksina je 5 samic postalo brejih, pri čemer je le ena skotila živega mladiča (Rier in sod., 1993).

Znanstvena raziskava iz leta 1997 ki je bila opravljena na oddelku za ginekologijo v bolnišnici Bikur Cholim v Jeruzalemu dokumentira možne povezave med dioksinom in endometriozo. Mayani s sodelavci je ugotavljal koncentracijo dioksina pri 44 neplodnih ženskah z endometriozo, ki so jo primerjali z ravno dioksina skupine 35 neplodnih žensk, ki pa so imele druge težave pri neplodnosti. V skupini žensk z endometriozo je imelo 8 žensk (18 %) potrjeno prisotnost dioksina v krvnem serumu, medtem ko je imela dioksin v krvi le ena pacientka z drugimi težavami. (Mayani in sod., 1997)

Čeprav koncentracija dioksina ni pokazala neposredne korelacije s pojavom endometrioze, ta študija še enkrat kaže na povezavo med dioksini in endometriozo tudi pri humani populaciji. Predpostavlja se domnevni učinek dioksina in njegov dvosmerni učinek na mrežo citokinov med imunskim in endokrinim sistemom.



Slika 16: Endometrijoza pri Rhesus opicah – slika a prikazuje jajčnike, sliki b in c pojav cist

Vir slike 16 (povzeto po):

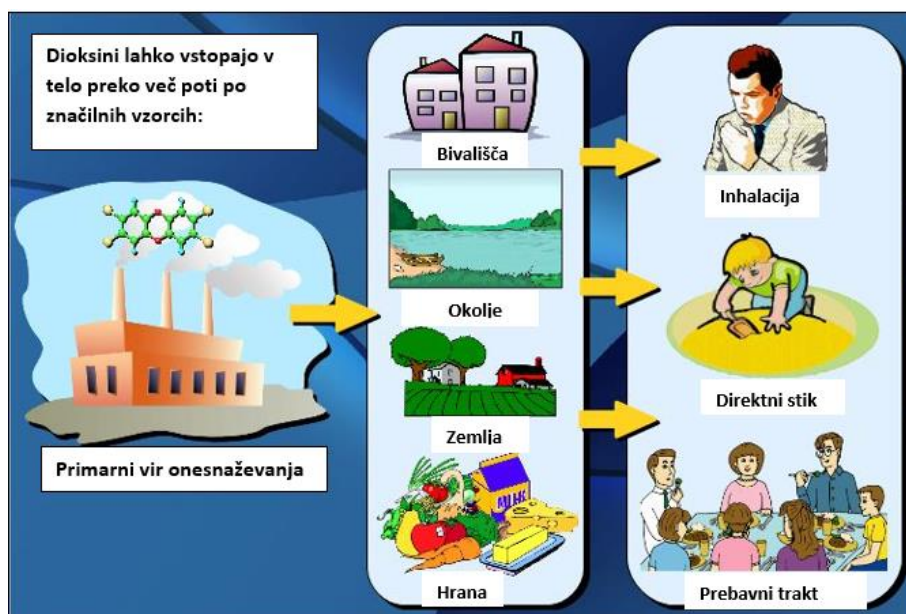
[https://www.dpz.eu/fileadmin/content/Infektionspathologie/Bilder/Dokumente/Final\\_paper\\_pb-4-77-2017.pdf](https://www.dpz.eu/fileadmin/content/Infektionspathologie/Bilder/Dokumente/Final_paper_pb-4-77-2017.pdf)  
(17.1.2019).

### Ugotovitev 3: Dioksini in furani največkrat preidejo v telo z živili

Najvišje koncentracije dioksinov in furanov zasledimo v prometnih in industrijskih središčih in njihovi okolici. V onesnaženem okolju preko zraka, zemlje ali vode prehajajo v različne organske snovi, tudi na rastline (slika 17). Rastlinojede živali nato zaužijejo onesnažene rastline, mesojede živali pa te snovi vsrkajo preko mesa onesnaženih živali. Živali kopičijo več teh snovi v maščevju. Na ta način prihaja do akumulacije izpostavljenih organizmov v višjih koncentracijah kot v okolju. Najvišje koncentracije se torej nahajajo v živilih živalskega izvora (EFSA, 2012).

Furani se v živilih pojavijo tudi kot posledica tvorbe pri tradicionalni toplotni obdelavi živil. Pomemben vzrok je torej toplotna obdelava, ni pa edini (NIJZ, 2017).

Človek lahko vnaša dioksine in furane na več načinov. Z inhalacijo onesnaženega zraka, neposredno preko kože (dermalno), največ pa z uživanjem živil in onesnažene vode. Ker smo ljudje v samem vrhu prehranjevalne verige, smo zato v primerjavi z drugimi organizmi tudi najbolj izpostavljeni. Trenutno se ocenjuje, da je vnos dioksinov in furanov v 90 % vezan na uživanje živil. Kopičenje teh snovi pa je tudi odvisno od časa izpostavljenosti in vsebnosti teh snovi v okolju, vključno s hrano (NIJZ, 2017).



Slika 17: Usoda dioksina v okolju

Vir slike 17 (povzeto po): <http://experttoxicologist.com/newsite/toxicology-toxic-exposures-tcdd-dioxin.aspx?cln=1> (17.1.2019).

## 10. RAZPRAVA S SKLEPI

**Ugotovitev 1: V Sloveniji imamo uradno bazo podatkov, kjer lahko pridobimo podrobne informacije o dioksinih in furanih.**

Proces identifikacije in karakterizacije je osnovnega pomena pri opredelitvi ksenobiotikov, ki so nevarni za človeško reprodukcijo, pa tudi tistih, ki niso.

Pri prepoznavanju teh substanc Evropska agencija za varstvo okolja in Evropska agencija za varno hrano in zdravila (EFSA) še naprej sprejemata pomembne spremembe pri protokolih za testiranje pesticidov in farmacevtskih zdravil na živalih. Baze o teh snoveh na nacionalni ravni pa pri nas še vedno ni. Za večino industrijskih in potrošniških izdelkov, ki vsebujejo kemikalije, vključno s tistimi, ki so razširjene v okolju, so informacije o biološki aktivnosti pogosto pomanjkljive. Mnoge kemikalije, ki se uporabljajo v oglaševanju, niso bile testirane, kar se tiče vplivov na reprodukcijo in razvoj. Pri nas torej v povezavi z dioksini obstajajo zgolj podatki, ki so nastali v zvezi z določenimi projekti v katere so bile pristojne ustanove vključene. Na Uradu RS za kemikalije imajo v arhivih Nacionalne izvedbene načrte za ravnanje z obstojnimi organskimi onesnaževali, kjer so dioksini predstavljeni v enem od poglavij. Tu za dioksine ocenjujejo, da »sedanja količina dioksinov povzroči 1-10 primerov raka na 10 000 prebivalcev. Tolerančna meja za dnevni vnos, ki jo je postavila WHO, je 4 pg/kg t.t. Razpolovna doba v človeškem telesu znaša 7-20 let.«

(Povzeto po: [http://www.uk.gov.si/fileadmin/uk.gov.si/pageuploads/pdf/NIP\\_POPsAvg09.pdf](http://www.uk.gov.si/fileadmin/uk.gov.si/pageuploads/pdf/NIP_POPsAvg09.pdf) 30. 4. 2019).

## **Ugotovitev 2: Skupina dioksinov in dioksinu podobnih snovi spada med snovi, ki povzročajo endometriozo pri človeku.**

Večina študij o biološko aktivnih snoveh, ki učinkujejo na reprodukcijo, je bila opravljena na živalih, a vedno obstaja negotovost, kako dobro testi na živalih napovejo strupenost pri ljudeh. Prenos podatkov živali na ljudi mora biti pazljivo izveden. Med reproduktivnimi toksikologi ne obstaja soglasje o pomembnosti različnih izidov ali končnih razpletov, še posebej pri razvojnih študijah strupenosti.

Veliko substanc kaže učinke na reproduktivno zmožnost ali razvoj pri živalih, če so temu zelo izpostavljene. Vendar to ne odgovori na vprašanje, v kolikšni meri so ti rezultati relevantni pri ljudeh v manjših dozah, še posebej pri dolgoročni izpostavljenosti, ki se začne v maternici in se nadaljuje skozi reproduktivna leta. Zaradi razlik v reproduktivnih in/ali toksikoloških mehanizmih so nadaljnje domneve, ki so potrebne za posplošitev učinkov reprodukcije iz eksperimentalnih živali na ljudi še mnogo bolj zapletene. Druga težava pri reproduktivni toksikologiji so razlike v spolu. Ta se pojavi zaradi razlik v spolu v anatomiji in bioloških mehanizmih nadzora pri reprodukciji.

Ker narašča razumevanje bioloških učinkov toksičnih snovi so preiskovalci začeli preučevati možne povezave med izpostavljenostjo dioksinom in dioksinu podobnim spojinam in serijo opozorilnih znakov ogroženosti zdravja ljudi. Nekateri so še vedno mnenja, da ni prepričljivih dokazov o vplivih na zdravje pri trenutnih stopnjah izpostavljenosti pri splošni populaciji. Osredotočajo se na pomanjkanje strogo dokazanih vzorčnih povezav med izpostavljenostjo toksinom in zdravjem ljudi. Ta težava pa seveda ni zlahka razrešena z dokazljivim odzivom. Po svetu so ljudje, rastline in živali izpostavljene kemikalijam, ki v določenih okoliščinah jasno spreminjajo biokemične funkcije včasih z grozljivimi rezultati. Pogosto pa so dolgoročni učinki teh sprememb pri posamezniku ali na ravni populacije neznani in jih je težko napovedati (Hoyer, 2001). Drži tudi, da so v raziskovalnih študijah uporabljeni bistveno večji odmerki, kot pa smo jim ljudje dejansko izpostavljeni v vsakdanu.

Univerzalna izpostavljanja pogosto otežijo ali onemogočajo identifikacijo neizpostavljenih populacij. Dodatne izpostavljenosti, čeprav majhne so lahko zelo pomembne. Te značilnosti kažejo potrebo po preoblikovanju dosedanjih študij strupenosti. Čeprav so mnenja o potencialnem vplivu dioksinov na pojavnost endometrioze različna, pa je vpletenost teh snovi v delovanje hormonov očitna.

## **Ugotovitev 3: Dioksini in furani največkrat preidejo v telo z živili**

Ker je večina teh snovi topna v maščobah, se na dolgi rok nalagajo v maščobnih tkivih živali in rib, ki zaužijejo onesnažene rastline in jih človek uživa. Ker smo ljudje v samem vrhu prehranjevalne verige je torej logičen sklep, da največ dioksinov in podobnih spojin v telo vnesemo preko živil in sicer smatrajo, da več kot 90 % (EFSA, 2012). Eden izmed ukrepov, s katerim bi zmanjšali vnos dioksinov je tudi ta, da pridelamo svojo hrano, v kolikor imamo to možnost in le-to tudi čimprej porabimo. Tako je manj možnosti, da bo hrana, ki jo zaužijemo kontaminirana.

## 11. POVZETEK

Namen diplomske naloge je predstaviti načine delovanja dioksinov kot hormonskih motilcev in najbolj značilne celične mehanizme preko katerih vplivajo na reproduktivni sistem človeka. Lahko delujejo posredno in neposredno, le redko pa imamo opravka le z eno substanco, ki bi vplivala na morebitni pojav bolezni. Običajno smo izpostavljeni večim toksičnim substancam hkrati (mešanice), ki delujejo tako, da se učinek povečuje oziroma je sinergističen. Zato je izredno težko določiti, katera snov je dejansko tista, ki povzroča škodo. Učinek tudi ni odvisen od količine, temveč lahko že katerakoli sled povzroči hormonska neravnovesja. Nekatere izpostavljenosti, ki so manjše, so lahko tudi zelo pomembne pri razumevanju delovanja dioksinov in nenazadnje pripomorejo k preoblikovanju dosedanjih toksikoloških študij. V Sloveniji trenutno nimamo podatkovnega portala ali baze, preko katere bi lahko pridobili informacije o preučevanih dioksinih in furanih. V povezavi z njimi obstajajo le podatki iz analiz institucij, ki so bile vključene v razne tuje projekte. V vseh raziskavah pa se je pojavljal podatek, da večina dioksinov pride v telo preko zaužitja s hrano, kar lahko povežemo z njegovimi fizikalno – kemijskimi lastnostmi. Večina toksikoloških študij o dioksinih je bila opravljena na živalih, kjer so znanstveniki začeli preučevati možne povezave med izpostavljenostjo dioksinu in serijo bolezenskih znakov, vendar ostaja vprašanje, če so ti podatki relevantni tudi za človeka. Pomembne so tudi regijske razlike, ki se pojavljajo in ki v veliki meri vplivajo na prevalenco bolezenskih stanj. Zavedati se moramo tudi, da so bile živali v študijah izpostavljene toksinom večinoma preko injiciranja in ne preko prebavnega trakta, pa tudi, da so bili odmerki mnogo večji, kot pa jim je človek v vsakdanu izpostavljen. Na ravni splošne populacije je nadaljnje učinke še posebej težko napovedati. Na žalost še ni ustreznih epidemioloških študij, ki bi z gotovostjo potrjevale ali dioksini povzročajo endometriozo. Vendar pa dosedanje raziskave vseeno potrjujejo vlogo okoljskih dejavnikov – prisotnost toksinov.



## 12. SUMMARY

The aim of the thesis is to present the function of the dioxins as endocrinel disruptors and the most characteristic cell mechanisms, through which they affect the human reproductive system. They can function directly and indirectly; only rarely, there is an only substance with which we are dealing, and which could affect the potential occurrence of the disease. Usually, we are exposed to more toxic substances at the same time (mixtures), which function with the aim to increase the effect or that the effect is synergistic. Therefore, it is extremely difficult to determine, which matter causes harm. The effect does not depend on the quantity; any trace can cause hormonal imbalances. Some smaller exposures can also be very important in understanding the functioning of the dioxins and lastly contribute to the restructuring of current toxicological studies. Currently, there is no data portal or basis in Slovenia, through which the information about the studied dioxins and furans could be obtained. In relation to them, there are only data from the analyses from the institutions, which were included in various foreign projects. A data, which was present in all studies, was that most dioxins enter the body through food ingestion, which can be related to their physically-chemical characteristics. Majority of toxicological studies on dioxins was performed on animals; here, the scientists began to study possible relations between exposure to dioxin and a series of symptoms, but the question remains if these data are relevant for human being as well. Regional differences are important as well; they appear and to a large extent affect the prevalence of conditions. We must be aware, that the animals in the studies were exposed to toxins mostly through injection and not through the digestive tract, and that the doses were much bigger than the human being is exposed to them daily. It is especially difficult to predict further effects on the level of the general population. Unfortunately, there are no adequate epidemiological studies which could with certainty confirm, if dioxins cause endometriosis. However, current studies confirm the role of environmental factors – the presence of toxins.

### 13. LITERATURA IN VIRI

Beltran, D. J., Toepfer, K. (1998). Chemicals in the European Environment: *Low Doses, High Stakes?* The EEA and UNEP Annual Message 2 on the state of Europe's Environment. European Environmental Agency, Copenhagen, str.32.

Berntssen, M. H.G., Lundebye, A. K. (2008). Improving Farmed Fish Quality and Safety: *Environmental contaminants in farmed fish and potential consequences for seafood safety*, National Institute of Nutrition and Seafood Research, Norway, str. 39-70.

Birnbaum, L. S. (1995). Toxicology Letters: *Developmental effects of dioxins and related endocrine disrupting chemicals*, United States Environmental Protection Agency, NC, Elsevier, Vol. 82/83: 743-750.

Bruner-Tran, K. L., Osteen, K. G. (2010). Systems Biology in Reproductive Medicine: *Dioxin-like PCBs and Endometriosis*, Women's Reproductive Health Research Center, Department of Obstetrics and Gynecology, Nashville, Informa Healthcare, Vol. 56: 132-146.

Colborn, T., Saal, F. S., Soto A. M. (1993). Environmental Health Perspectives: Developmental Effects of Contaminants: *Developmental Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals in Wildlife and Humans*, Department of Anatomy and Cellular Biology, Boston, Vol. 101, No. 5: 378-384.

Colborn, T. (2003). Environmental Health Perspectives, Review: *Neurodevelopment and Endocrine Disruption*, Department of Zoology, Florida, Vol. 112, No. 9: 944-949.

Čehič, S. (2007). Statistični urad Republike Slovenije, Posebne publikacije: *Kemikalije v okolju*, Ljubljana, Št.7, str.39.

EFSA, (2010). Scientific report of EFSA.

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2010.1385>. (9.4. 2019).

EFSA, (2012). Dioksini v živilih.

<https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/120718>. (8.4. 2019).

Eskenazi, B., Mocarelli, P., Warner, M., Samuels, S., Vercellini, P., Olive, D., Needham, L., Patterson, D., Brambilla, P. (2000). *Chemosphere: Seveso Women's Health Study: a study of the Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on reproductive health*, Pergamon, Vol.40: 1246-1253.

Eskenazi, B., Warner, M., Marks, A. R., Samuels, S., Needham, L., Brambilla, P., Mocarelli, P. (2010). *Epidemiology: Serum Dioxin Concentrations and Time to Pregnancy*, University of California, Lippincot Williams & Wilkins, Vol. 21, No.2.

Galimova, E. F., Amirova, Z. K., Galimov, Sh. N. (2014). *Environmental Science Pollution Residents: Dioxins in the semen of men with infertility*, Berlin, Springer.

Hatch, M.C., Stein, Z. A. (1986). *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis: Agent Orange and Risks to Reproduction: The Limits of Epidemiology*, New York, Alan R. Liss, 6: 185-202.

Hoyer, P. B. (2001). *Biochemical Pharmacology: Reproductive Toxicology: current and future directions*, Department of Physiology, Tucson, Elsevier, Vol. 62: 1557-1564.

Joffe, M. (2003). *British Medical Bulletin: Infertility and Environmental Pollutans*, Departments of Epidemiology and Public Health, Imperial College London, Vol. 68: 47-70.

Knez, J., Vlaisavljević, V. (2016). *Ginekologija in perinatologija: Ženska neplodnost*, Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta.

Kogevinas, M. (2001). *Human Reproduction Update: Human Health Effects of Dioxins: Cancer, Reproductive and Endocrine System Effects*. European Society of Human Reproduction and Embryology, Vol.7, No. 3: 331-339.

Levine, H., Jørgensen, N., Martino-Andrade, A., Mendiola, J., Weksler-Derri, D., Mindlis, I., Pinotti, R., Swan, s. (2017). *Human Reproduction Update, Review and meta regression of trends in sperm count: Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis*, Jerusalem, pp.1-14.

Liska, D. J. (1998). *Alternative Medicine Review: The Detoxification Enzyme Systems*, Thorne Research, Vol.3, No.3:187-198.

Mattison, D. R., Nightingale, M. S., Shiromizu, K. (1983). *Environmental Health Perspectives: Effects of Toxic Substances on Female Reproduction*. Vol. 48, p: 43-52.

Mattison, D. R., Plowchalk, D. R., Meadows, M. J., Al-Juburi, A. Z., Gandy, J., Malek, A. (1990). *Environmental Medicine: Reproductive Toxicity: Male and Female Reproductive systems as Targets for Chemical Chemical Injury*. Medical Clinics of North America, Vol. 74, No. 2, p: 391-411.

Mattison, D. R., Thomford, P. J. (1989). *Toxicologic Pathology: The Mechanisms of Action of Reproductive Toxicants*. U.S.A., Vol.17, No. 2, p: 364-376.

Mayani, A., Shimon, B., Soback, S., Almagor, M. (1997). *Human Reproduction: Dioxin Concentrations in women with Endometriosis*. European Society for Human Reproduction and Embryology, Vol. 12, No. 2: 373-375.

NIJZ, (2017). Dioksini v živilih oziroma hrani.

<http://www.nijz.si/sl/dioksini-furani-in-pcb-v-zivilih-ozroma-hrani>. (8.4.2019).

Pavčič, M. (2018). Motilci endokrinega sistema in njihov vpliv na zdravje.

<http://zasrce.si/clanek/motilci-endokrinega-sistema-in-njihov-vpliv-na-zdravje/> (15.1. 2019).

Pauwels, A., Schepens, P. J. C., Hooghe, T. D., Delbeke, L., Dhont, M., Brouwer, A., Weyler, J. (2001). *Human Reproduction: The Risk of Endometriosis and Exposure to Dioxins and Polychlorinated Byphenyls: a case-control study of infertile women*, European Society of Human Reproduction and Embryology, Vol. 16, No.10: 2050-2055.

Peterson, R. E., Theobald, H. M., Kimmel, G. L. (1993). *Critical Reviews in Toxicology: Developmental and Reproductive Toxicity of Dioxins and related Compounds: Cross-Species Comparisons*, Environmental Toxicology Center, Washington, CRC Press, Vol. 23, No. 3: 283-335.

Rier, S., Foster, W. G. (2002). *Toxicological Sciences: Forum: Environmental Dioxins and Endometriosis*. Society of Toxicology, No. 70: 161-170.

Rier, S. E., Martin, D. C., Bowman, R. E., Dmowski, W. P., Becker, J. L. (1993). Fundamental and Applied Toxicology: *Endometriosis in Rhesus Monkeys (Macaca mulatta) Following Chronic Exposure to 2, 3, 7, 8 – Tetrachlorodibenzo-p-dioxin*. Society of Toxicology, No. 21: 433-441.

Rosselli, M., Reinhart, K., Imthurn, B., Keller, P. J., Dubey, R. K. (2000). Human Reproduction Update: *Cellular and biochemical mechanisms by which environmental oestrogens influence reproductive function*. European Society for Human Reproduction and Embryology, Vol. 6, No.4: 332-350.

Schechter, A. (1994). *Dioxins and Health*. Health Science Center at Syracuse – Clinical Campus at Binghamton. New York, Plenum Press.

Schetler, T., Solomon, G., Valenti, M., Huddle, A. (1999). Generations at risk: *Reproductive Health and the Environment*. London, The MIT Press.

Scialli, A. R. (2001). Reproductive Toxicology: *Tampons, Dioxins and Endometriosis*, Department of Obstetrics and Gynecology, Washington, Elsevier, Vol. 15: 231-238.

Sharara, F. I., Seifer, D. B., Flaws, J. A. (1998). Fertility and Sterility: *Environmental toxicants and Female Reproduction*. American Society for Reproductive Medicine, New Jersey, Elsevier Science, Vol. 70, No.4: 613-622.

Sherry, E., Rier, Ph. D. (2008). Fertility and Sterility: *Environmental immune disruption: a comorbidity factor for reproduction?*, American Society for Reproductive Medicine, Elsevier, Vol. 89: suplenent 1: 103-108.

Sikka, S. C., Wang, R. (2008). Endocrine Disruptors and Male Reproductive Effects: *Endocrine Disruptors and Estrogenic Effects on Male Reproductive Axis*. Shaghai, Blackwell Publishing, Asian Journal of Andrology, Vol. 10, No.1: 134-145.

Silbergeld, E. K., Mattison, D. R. (1987). American Journal of Industrial Medicine: *Experimental and Clinical Studies on the Reproductive Toxicology of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin*, Washington, Alan R. Liss, Vol. 11: 131-144.

Virant-Klun, I., Meden-Vrtovec, H., Tomažič, T. (2002). Od nastanka gamet do rojstva: *oploditev z biomedicinsko pomočjo*. Ljubljana, Didakta.

Veterans and Agent Orange: Health Effects of Herbicides Used in Vietnam (1994). The National Academies Press.

Zorn, B. (2016). Ginekologija in perinatologija: *Moška neplodnost*, Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta.