

Pregled utjecaja estrogena na ljude, životinje i biljke

Filipović-Grčić, Marija

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:054391>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-02**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologija**

Marija Filipović-Grčić
0058208892

**PREGLED UTJECAJA ESTROGENA NA LJUDE,
ŽIVOTINJE I BILJKE**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Tehnologija vitamina i hormona

Mentor: prof. dr. sc. Višnja Gaurina Srček

Zagreb, 2022. godina.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Biotehnologija

Zavod za biokemijsko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju i primjenu stanica i biotransformacije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija

Pregled utjecaja estrogena na ljude, životinje i biljke

Marija Filipović-Grčić, 0058208892

Sažetak:

Estrogeni su primarno ženski spolni hormoni odgovorni za razvoj i regulaciju ženskog reproduktivnog sustava te sekundarnih spolnih obilježja. Biološki su aktivni spojevi koji nastaju sintezom iz kolesterola te lako difundiraju kroz stanične membrane u stanice i vežu se te aktiviraju estrogenske receptore.

U ovom radu su opisani estrogeni spojevi, njihovi izvori te načini na koji cirkuliraju u okolišu. Prikazana su dosadašnja znanja o razgradnji i polu-životu estrogenih spojeva te ciklusi transformacije estrogenih spojeva. Dio ovog rada daje pregled spoznaja o utjecajima povišenih razina estrogena na zdravlje ljudi, životinja i biljaka te je opisan i način na koji biljke akumuliraju estrogene spojeve. Cilj rada je upozoriti na posljedice koje nastaju kod prekomjerne uporabe estrogenih spojeva u agrikulturi, kao lijekova te dodataka prehrani. Također, i dalje je potrebno provoditi dodatna i detaljnija istraživanja o prisutnosti ovih kontaminanata u eko-sustavima u različitim dijelovima svijeta.

Ključne riječi: estrogeni spojevi, utjecaj na okoliš, organski kontaminanti

Rad sadrži: 23 stranica, 2 slike, 2 tablice, 59 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Višnja Gaurina Srček

Datum obrane: 19. rujna, 2022.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology

Department of biochemical engineering
Laboratory for cell culture technology and biotransformations

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Biotechnology

Overview of the effects of estrogens on humans, animals, and plants

Marija Filipović-Grčić, 0058208892

Abstract:

Estrogens are primarily female sex hormones responsible for the development and regulation of the female reproductive system and secondary sex characteristics. They are biologically active compounds that are synthesized from cholesterol and easily diffuse through cell membranes into cells and bind to and activate estrogen receptors.

This paper describes estrogenic compounds, their sources and the ways in which they circulate in the environment. Current knowledge on the degradation and half-life of estrogen compounds and the cycles of transformation of estrogen compounds are presented. Part of this paper provides an overview of knowledge about the effects of elevated estrogen levels on the health of humans, animals and plants, and describes the way in which plants accumulate estrogenic compounds. The aim of this paper is to warn about the consequences of the excessive use of estrogenic compounds in agriculture, as medication and food supplements. Also, it is still necessary to carry out additional and more detailed research on the presence of these contaminants in ecosystems in different parts of the world.

Keywords: estrogenic compounds, effects on the environment, organic contaminants

Thesis contains: 23 pages, 2 figures, 2 tables, 59 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. Višnja Gaurina Srček, PhD

Thesis defended: September 19th, 2022

Sadržaj

1.UVOD	1
2.TEORIJSKI DIO	2
2.1. OPĆENITO O ESTROGENIM HORMONIMA	2
2.2. IZVORI ESTROGENIH SPOJEVA.....	3
2.3. RAZGRADNJA I POLU-ŽIVOT ESTROGENA	8
2.4. CIKLUS TRANSFORMACIJE ESTROGENA	9
2.5. EFEKTI STEROIDNIH HORMONA NA RAZLIČITE ORGANIZME	11
2.5.1. VODENI ORGANIZMI.....	11
2.5.2. DOMAĆE ŽIVOTINJE	11
2.5.3. LJUDI	11
2.6. MEHANIZMI PREUZIMANJA I TRANSPORTA TVARI U BILJNIM SUSTAVIMA .	12
2.6.1. PRIJENOS TVARI OD KORIJENA DO OSTALIH DIJELOVA BILJKE	13
2.7. AKUMULACIJA ESTROGENA U BILJKAMA	14
2.7.1. UTJECAJ ESTROGENA NA RAST BILJAKA	14
2.7.2. UTJECAJ ESTROGENA NA ANTIOKSIDATIVNU AKTIVNOST BILJAKA	15
3.ZAKLJUČCI.....	16
4.POPIS LITERATURE	17

1. UVOD

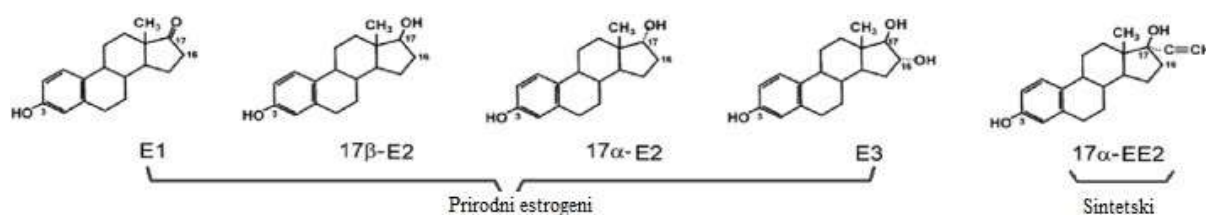
Prirodni estrogene, estron (E1), 17 β -estradiol (E2) i estriol (E3) imaju vitalnu ulogu u ljudskom zdravlju. Međutim, kada se ispuste u okoliš postaju opasni jer u prevelikim količinama ometaju rad endokrinog sustava. Isto tako, sintetski estrogene kao što je etinil estradiol (EE2) koriste se kao dio oralne kontracepcije, u nadomjesnoj terapiji estrogena za žene u postmenopauzi te u slučajevima dismenoreje. Također, ovi spojevi se mogu koristiti u koncentriranoj prehrani domaćih životinja te kao dodaci fertilizatorima prilikom uzgoja biljaka. No, prekomjerna uporaba estrogene hormona uzrokuje povećanje koncentracije ovih spojeva u tlu i vodama, jer se izravno i dosljedno ispuštaju u površinske i otpadne vode te završe kao dio čvrstog organskog otpada. Iako su prirodno prisutni u ljudima, životinjama i biljkama, ove prevelike koncentracije imaju negativan utjecaj te je potrebno ograničiti izloženost estrogenima i pronaći načine da se prevelike koncentracije u prirodi reduciraju.

U ovom radu dan je pregled najnovijih spoznaja o vrstama i utjecaju prirodnih i sintetskih estrogene spojeva na ljude, vodene organizme, domaće životinje i biljke.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. OPĆENITO O ESTROGENIM HORMONIMA

Estrogeni su primarno ženski spolni hormoni odgovorni za razvoj i regulaciju ženskog reproduktivnog sustava te sekundarnih spolnih obilježja. Biološki su aktivni spojevi koji nastaju sintezom iz kolesterola te lako difundiraju kroz stanične membrane u stanice i vežu se te aktiviraju estrogenske receptore. Kod ljudi i životinja oslobađaju se iz kore nadbubrežne žlijezde, testisa, jajnika te posteljice a estrogeni spojevi pronađeni su i kod biljaka (Hamid i Eskicioglu, 2012; Ying i sur., 2002). Steroidni estrogeni se mogu klasificirati kao prirodni ili sintetski hormoni te mogu djelovati kao kemikalije koje ometaju endokrini sustav. Prirodni steroidni estrogeni (pripadnici C18 steroidne grupe) dijele istu tetracikličnu molekularnu osnovu sa fenolnom grupom, dva cikloheksanska i jednim ciklopentanskim prstenom. Glavna razlika u ovoj steroidnoj grupi nalazi se u konfiguraciji D-prstena na pozicijama C16 i C17 (Slika 1.).



Slika 1. Kemijska struktura prirodnih i sintetskih estrogenih spojeva (prilagođeno prema Adeel i sur., 2017).

U prirodne estrogene spadaju: E1, estron; 17β-E2, 17β-estradiol; 17α-E2, 17α-estradiol; E3, estriol; dok je sintetski estrogen 17α-EE2, etinil estradiol. Sintetički konjugirani estrogeni, koji su i potencijalno štetni za okoliš, formiraju se esterifikacijom slobodnih estrogena pomoću glukuronidih i sulfatnih skupina na pozicijama C3 i C17 (Hamid i Eskicioglu, 2012). Najčešće se koriste kao dio oralne kontracepcije, u nadomjesnoj terapiji estrogena za žene u postmenopauzi te u nadomjesnoj hormonskoj terapiji za žene (Nazari i Suja, 2016).

2.2. IZVORI ESTROGENIH SPOJEVA

Širom svijeta, ljudska populacija od 7 milijardi otpušta gotovo 30000 kg prirodnih steroidnih estrogena (E1, E2, E3) godišnje a dodatnih 700 kg godišnje sintetskog estrogena (EE2) potječe iz uporabe kontracepcijskih pilula. U prosjeku, trudnice izluče između 260-790 μg estrona i 280-600 μg 17β -estradiola dnevno te čak 6000-10000 μg estriola dnevno. Ove razine su puno veće od odgovarajućih razina estrogena koje izlučuju žene u menopauzi koje su liječene nadomjesnom hormonskom terapijom. Predvidljivo je da su razine izlučenih estrogena od strane ne-trudnih žena, muškaraca i djece progresivno i bitno niže (tablica 1).

Tablica 1. Prosječno izlučivanje steroidnih estrogena po osobi ($\mu\text{g}/\text{dan}$)

	E1	17β -E2	E3	EE2	Literatura
Trudna žena	787	277	9850	0	Kostich i sur., (2013)
Žena u menopauzi, sa nadomjesnom hormonskom terapijom	31,50	59,20	90,70	0	Kostich i sur., (2013)
Žena u menstruaciji	9,32	6,14	17,40	0	Kostich i sur., (2013)
Odrasla žena	7,00	2,40	4,40	Nema podataka	Andaluri i sur., (2012)
Odrastao muškarac	3,50	1,83	3,21	Nema podataka	Kostich i sur., (2013)
Žena u menopauzi bez nadomjesne hormonske terapije	2,93	1,49	3,90	0	Kostich i sur., (2013)
Žensko dijete	0,60	2,50	0,918	0	Kostich i sur., (2013)
Muško dijete	0,63	0,54	/	0	Kostich i sur., (2013)
Prosječno izlučivanje po osobi	19,00	7,70	8100	0,41	Laurenson i sur., (2014)

S druge strane, komunalna postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda bitan su izvor zagađenja i otpuštanja steroidnih estrogena u okoliš. Razlog tomu je što se u postrojenjima ne postigne potpuno uklanjanje estrogena pa tako bio-krutine i otpadne vode sadržavaju značajne koncentracije estrogena i kao takvi se otpuštaju direktno u prirodu (Andaluri i sur., 2012; Pal i sur., 2010). Isto tako, komunalna odlagališta otpada su izvori organskih kontaminanata i mogu sadržavati procjedne vode sa značajnim količinama otopljene organske tvari koja se djelomično sastoji od steroidnih hormona i drugih kontaminanata. Osim toga, bolnice su identificirane kao jedan od glavnih izvora onečišćenja steroidnim estrogenima, a pogotovo su izvor estriola koji je pronađen u svim uzorcima bolničkih otpadnih voda (Avberšek i sur., 2011).

U mliječnoj industriji se već dugo koriste razni steroidi za regulaciju i povećanje rasta stoke, povećanje učinkovitosti samog hranjenja te kako bi se osigurala što veća mišićna masa stoke. Operacije koncentriranog hranjenja životinja su rizične za okoliš, pa tako dodatak prirodnih i sintetiziranih steroida djeluju indirektno i kumulativno jer životinjski otpad curi u vodeni okoliš. Steroidni estrogeni koji se koriste u ovim operacijama detektirani su u fekalijama, gnojivu i čvrstom otpadu prikupljenom od goveda, otpadnim vodama laguna i u gnojivima koja se koriste direktno na poljoprivrednim zemljištima (Biswas i sur., 2013).

Ekstremno velike količine prirodnog estrogena, E1, pronađene su na mjestima koja nalikuju gnojnicama, s nešto manjim količinama 17α -E2 i 17β -E2. Studije s radioaktivnim tragovima su pokazale da se 17β -estradiol izlučuje prvenstveno u fekalijama svinja i peradi dok se 17α -estradiol i estron (E3) uglavnom nalaze u urinu (Hanselman i sur., 2003). Stoga se može zaključiti da estrogeni, koji su dio hranidbenog programa te povezani sa intenzivnim stočarstvom, lako pronađu svoj put do proizvoda koji se izlučuju. Usporedivo niže količine E1 se mogu pronaći u dubokim vodama dok razine estrogena variraju u otpadnim vodama. Unatoč tome Kjaer i sur., (2007) su izvijestili o 68,1 ng/L E1 u dubokim podzemnim vodama koje su dovoljno blizu vodi za piće da taj podatak izazove uzbunu, što je vidljivo u Tablici 2. Također, vrlo su uočljiva jedva ikakva mjerenja E3, te posebno sintetičkog EE2.

Tablica 2. Koncentracija estrogena (ng/L) u okolišu.

Tip uzorka	E1	17 α -E2	17 β -E2	E3	EE2	Literatura
Svinjski gnoj	5900-150000	4000-84000	1800-49000	Nema podataka	Nema podataka	Li i sur., 2010
Otpadne vode svinjske farme	5200-5400	650-680	1000-1500	2200-3000	Nema podataka	Franks, 2006
Gnoj s mliječne farme	2500-80000	2000-5000	800-27000	Nema podataka	Nema podataka	Li i sur., 2010
Tretirana tovilišta za stoku	720	1100	1250	Nema podataka	Nema podataka	Bartelt-Hunt i sur., 2012
Otpadne vode mliječne farme	370-2356	1750-3270	351-957	Nema podataka	Nema podataka	Li i sur., 2010
Ribnjak	650	Nema podataka	Nema podataka	Nema podataka	Nema podataka	Rodriguez-Navas i sur., 2013
Bioplin digestate	593	50	24	Nema podataka	Nema podataka	Rodriguez-Navas i sur., 2013
Urin krmača	416-490	Nema podataka	85-97	127-193	Nema podataka	Zhang i sur., 2014
Voda za ispašu	78	31	18	Nema podataka	Nema podataka	Kolodziej i Sedlak, 2007
Svinjski gnoj	70	175	15	Nema podataka	Nema podataka	Rodriguez-Navas i sur., 2013

Tablica 2. Koncentracija estrogena (ng/L) u okolišu (nastavak).

Ispust iz svinjskog gnoja	68,1	2,5	Nema podataka	Nema podataka	Nema podataka	Kjaer i sur., 2007
Podzemne vode na 1 m dubine	68,1	Nema podataka	2,5	Nema podataka	Nema podataka	Kjaer i sur., 2007
Otpadne vode postrojenja za pročišćavanje	12-196	6,4-12,6	6,2-42,2	Nema podataka	0,59-5,6	Pal i sur., 2010
Morska voda	Nema podataka	Nema podataka	0,83	Nema podataka	4,67	Pal i sur., 2010

Uporaba čvrstog organskog otpada i stajskog gnoja kao fertilizatora za usjeve u agrikulturi je još jedan od načina na koji estrogeni završe u čvrstom tlu. Prema Andaluri i sur. (2012), za uzgoj gljiva se koriste velike količine komposta koji je baziran na gnoju peradi i konja. Koncentracija 17α -estradiola, 17β -estradiola i estrona u gnojivu može varirati od 6 do 462 ng/g suhe tvari (Andaluri i sur., 2012). Osim toga, stočni izmet je izvor prirodnog estrogena kojeg pronalazimo u vodenom okolišu jer otječe iz gnojiva u drenažne sustave, te njihova najveća koncentracija može varirati od 2-5 do 68 ng/L (Kjaer i sur., 2007).

Raširena praksa je da se gnojivo konvertira u obnovljivu energiju kao što je bioplin te su u digestatu bioplina zabilježene razine estrogena od 1478 ng/g. Tekući i kruti nusproizvodi mogu se također koristiti kao gnojivo što predstavlja još jedan potencijalni izvor onečišćenja estrogenom.

Kada se prikazani podaci usporede s prihvatljivim razinama unosa estrogena za ljude (tablica 3), očito je da estrogeni predstavljaju ozbiljan rizik za okoliš. No, bitno je naglasiti da raspodjela estrogena u svijetu ovisi o različitim izvorima samih estrogena ali i specifičnim uvjetima okoliša koji su karakteristični za pojedini dio svijeta.

Tablica 3. Prihvatljiv dnevni unos za ljude putem hrane ($\mu\text{g}/\text{dan}$).

	E1	17 β -E2	EE2	Literatura
Odrasla osoba (60kg)	Nema podataka	3	Nema podataka	Lu i sur., 2012
Dijete (10kg)	Nema podataka	0,5	Nema podataka	Lu i sur., 2012
Odrasla osoba (kg/dan)	Nema podataka	5	Nema podataka	Plotan i sur., 2014
Muškarci	1	Nema podataka	Nema podataka	Shargil i sur., 2015
Žene	50	Nema podataka	Nema podataka	Shargil i sur., 2015

2.3. RAZGRADNJA I POLU-ŽIVOT ESTROGENA

Polu-život estrogena ovisi o stopi degradacije koja odražava početnu količinu estrogena te količinu koja zaostaje nakon određenog vremena. Polu-život se može odrediti kinetikom raspada prvog reda ili regresijskom krivuljom, dok se brzina razgradnje može procijeniti izravno iz kinetike raspada. Očito je, što je duži polu-život onečišćivača, to postojaniji će biti u okolini. Steroidni estrogene koje izlučuju ljudi i životinje imaju kratak polu-život, hidrofobni su pa se njihove koncentracije značajno smanjuju u vodenoj fazi. Izračunato je da njihov polu-život traje 2 do 6 dana u vodi i sedimentu (Ying i sur., 2002).

U sustavu podzemnih voda pod aerobnim uvjetima, E2 se brzo razgradio unutar 10 dana. Međutim, tijekom istog vremenskog perioda, EE2 se nije degradirao ali njegova koncentracija se smanjila s 1-0,62 µg/g pa se može zaključiti da je sintetski estrogen puno postojaniji u okolišu od prirodnog. Doista, polu-život E2 i EE2 u aerobnim uvjetima iznosi 2 odnosno 81 dan. Nije došlo do razgradnje ovih dvaju spojeva u anaerobnim uvjetima što jasno označava da oksidativno stanje izvora ima kritičan utjecaj na polu-život i brzinu razgradnje (Ying i sur., 2003). Polu-život također ovisi i o mjestu gdje je estrogen detektiran, pa tako u prozračenom tlu, E2 i EE2 se razgrađuju unutar 15 dana s vremenom poluraspada od 3 do 4,5 dana. Međutim, u anaerobnom tlu, razgradnja je vrlo spora te je za E2 procijenjeno 24 dana polu-života. Tako da ne samo lokacija nego i relativno redoks stanje mjesta istraživanja može jasno utjecati na polu-život i brzinu razgradnje estrogena.

E1 i E2 se razgrađuju u različitim redoks uvjetima, pri čemu su podložniji biorazgradnji u biotičkim uvjetima. Bakterije prisutne u okolišu kao što su gram-negativne *Rhodococcus zopfii* i *Rhodococcus equi* mogu potpuno razgraditi estrogenske spojeve u bezopasne proizvode. Gore spomenute bakterije se mogu naći u kanalizacijskom mulju a imaju potencijal razgraditi E2 unutar 24 h (Hamid i Eskicioglu, 2012). Nekoliko drugih faktora također utječe na polu-život i raspadanje estrogena u prirodi: hidrofobno odijeljivanje, kovalentno vezanje, razmjena liganada, i migracija u mikropolja na česticama tla. Osim toga, na ove procese mogu utjecati i koncentracije organskih kontaminanata koji su apsorbirani u čestice tla i ne mogu se vratiti u prvobitni oblik procesima ekstrakcije.

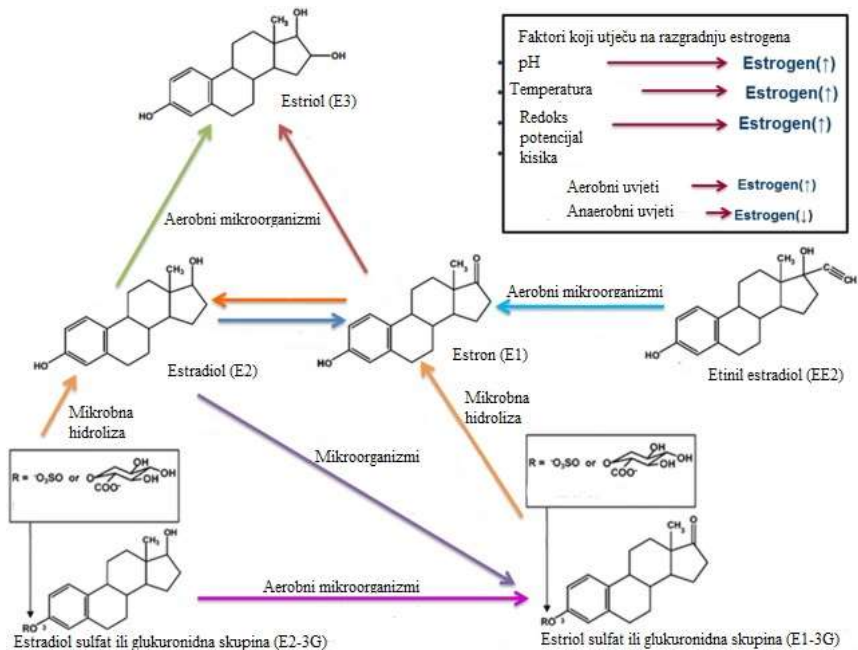
Ispitivanja vezana uz EE2 su pokazala da se ovaj spoj brzo raspada u prozračenom tlu ali bakterijske skupine prirodno prisutne u tlu omogućuju brzu razgradnju u aerobnim i anaerobnim uvjetima (Carr i sur., 2011).

Wang i sur. (2019) proveli su istraživanje u kojem dokazuju razgradnju estrogenih spojeva pomoću četiri različite vrste mikroalgi, *Haematococcus pluvialis*, *Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella vulgaris*. U prosjeku, sve četiri mikroalge su razgradile 91% E1, 100% E2, a 85% EE2 su mogle razgraditi samo *H. pluvialis* i *S. quadricauda*. Razlog otežane razgradnje EE2 je postojanje etinilne skupine (Wang i sur., 2019).

Estrogeni E2 i EE2 su u vodenim okruženjima podložni i na razgradnju fotokatalizom i fotolizom. Opseg razgradnje ovim putem ovisi o kemijskoj strukturi pojedinog estrogena. Fotoliza, biodegradacija i apsorpcija su vjerojatno vodeći razlozi usporavanja puteva koji kontroliraju sudbinu E2 u površinskim vodama (Petrie i sur., 2015). Potrebna su daljnja istraživanja da bi se odredio utjecaj fotolize na organske kontaminante u različitim okolišnim uvjetima kao npr. različitim dubinama rijeka i u sjenama vegetacije oko jezera.

2.4. CIKLUS TRANSFORMACIJE ESTROGENA

Estron (E1), estradiol (E2) i estriol (E3) su na isprepletenim metaboličkim putevima (Goepfert i sur., 2015). Mikroorganizmi koji žive u aerobnim uvjetima mogu pretvarati estrogene iz jednog oblika u drugi (slika 2). Neki mikrobi (npr. nitrificirajuće bakterije) mogu konvertirati E1 u E3, dok drugi degradiraju E1, E2 i EE2 (npr. *Novosphingobium* sp. u aktiviranom mulju). Postoji i niz različitih anaerobnih bakterija koje mogu transformirati jedan oblik estrogena u drugi. U jezerskoj vodi i sedimentu E2 je kemijski pretvoren u E1 pod anaerobnim, metanogenim uvjetima i uvjetima redukcije sulfata, željeza i nitrata, ali za razliku od toga, razgradnja EE2 nije zabilježena (Czajka i Londry 2006). Uz to reakcija recemizacije 17 α -estradiola u 17 β -estradiol preko estrona događa se u otpadnoj vodi u anaerobnim uvjetima (Zheng i sur., 2012).



Slika 2. Putevi međusobne konverzije estrogenih hormona (prilagođeno prema Adeel i sur., 2017).

Mnoge studije indiciraju da je E1 glavni produkt razgradnje E2. Na primjer, u muljevitom ilovastom tlu, E1 je bio glavni proizvod razgradnje E2 u abiotskim uvjetima (Xuan i sur., 2008). Interesantno, u jezerskoj vodi i sedimentu može doći do recemizacije između E1 i 17α -estradiola. Pod umjetnom kišom, smanjenje koncentracije 17α -estradiola je popraćeno ekvivalentnim povećanjem koncentracije estrona i 17β -estradiola u površinskom tlu (Mansell i sur., 2011) što ukazuje na aktivnost mikrobnih enzima koji kataliziraju ove pretvorbe. Prater i sur. (2015) su također primijetili da se unutar 24 sata, reverzibilna konverzija iz E2 u E1, a zatim natrag u E2 događa u koloidnoj suspenziji svinjskog gnoja.

2.5. EFEKTI STEROIDNIH HORMONA NA RAZLIČITE ORGANIZME

2.5.1. VODENI ORGANIZMI

Postoje brojni dokazi da se razvoj riba poremetio u vodama koje primaju efluent iz postrojenja za obradu otpadnih voda (Hotchkiss i sur., 2008). Kratkoročna izloženost prirodnim estrogenima koncentracije do 5 ng/L nema većeg utjecaja na život u vodi ali dugoročna koncentracija od 2 ng/L ostavlja utjecaj na ribe (Anderson i sur., 2012). Sintetski EE2, međutim, izaziva kroničnu toksičnost već pri koncentraciji od 0,1 ng/L (Laurenson i sur., 2014). Konkretnije, nekoliko je studija pokazalo da povišene koncentracije prirodnih i sintetičkih estrogena feminiziraju muške ribe, to jest, smanjuju veličinu testisa (Arnold i sur., 2014), utječu na reproduktivnu sposobnost (Rose i sur., 2013), smanjuju broj spermija i mijenjaju druge reproduktivne karakteristike (Van Donk i sur., 2016). Osim toga, EE2 je uzrokovao znatno smanjenje riblje biomase i poremetio lanac ishrane u vodi (Hallgren i sur., 2014) a koncentracija od 10 ng/L izravno je utjecala na rad srca punoglavaca (Salla i sur., 2016). Međutim, sedmogodišnja terenska studija otkrila je da ribe mogu nadvladati učinke EE2, što je dokazano povećanjem razine riblje populacije (Blanchfield i sur., 2015).

2.5.2. DOMAĆE ŽIVOTINJE

Fitoestrogeni (izoflavoni, koji su strukturno i funkcionalno slični 17β -E2) uzrokuju razvojne abnormalnosti domaćih životinja. Burton i Wells (2002) navode da krave pokazuju promjene u duljini sisa i boji vulve dok prema Hotchkiss i sur., (2008) ovce koje su pasle djetelinu sa visokom razinom fitoestrogena razviju trajnu neplodnost. Osim toga zabilježeni su i slučajevi utjecaja estrogena na povećanje očnog tlaka kod mačaka (Shamesh i Shore, 2012).

2.5.3. LJUDI

Estrogeni hormoni su ključni za ljudsku biologiju i fiziologiju. Pomažu u regulaciji reprodukcije, kardiovaskularne funkcije, čvrstoće kostiju, kognitivnog ponašanja, uspješne trudnoće i gastrointestinalnog sustava. Jedna od primjena estrogena je u nadomjesnoj hormonskoj terapiji gdje se daju ženama u postmenopauzi kako bi nadomjestili endogene hormone koji se više ne proizvode u dovoljnim količinama za održavanje normalnog zdravlja. Istraživanje utjecaja 17β -E2 u odnosu na nadomjesnu terapiju hormonima otkrilo je da se štetni hormonski učinci javljaju pri mnogo nižim koncentracijama od očekivanih i naknadno je uspostavljen prihvatljivi dnevni unos (PDU) od 0-50 ng/kg tjelesne težine (Plotan i sur., 2014).

Osim toga, Plotan i sur. (2014) su izračunali da 0,3 mg/dan (što je ekvivalentno 5 µg/kg tjelesne težine/dan) ima neprimijećene nuspojave za ljude, ali estrogene mogu utjecati na ljudsko zdravlje čim su iznad ove sigurne razine. Između ostalog, mogu povećati rizik od raka dojke kod žena te raka prostate kod muškaraca ali i izazvati kardiovaskularne bolesti (WocŁavek-Potocka i sur., 2013).

Steroidni estrogene u hrani i vodi mogu izazvati preuranjenu menopauzu i utjecati na reproduktivni razvoj te uzrokovati maskulinizaciju kod mladih žena. Nekoliko je studija također otkrilo da su estrogene uključeni u pad broja spermija i poremećaje muškog reproduktivnog sustava i feminizaciju muškaraca (Sumpter i Jobling, 2013). Steroidni estrogene pojedinačno ili u kombinaciji s progesteronom kod ljudi također smanjuju očni tlak nakon menopauze što može povećati rizik od razvoja glaukoma (Shemesh i Shore, 2012).

2.6. MEHANIZMI PREUZIMANJA I TRANSPORTA TVARI U BILJNIM SUSTAVIMA

Korištenje biljaka za fitoremedijaciju toksičnih okoliša je dobro poznata praksa. Fitoremedijacija se oslanja na sposobnost nekih biljaka da se prilagode i rastu u okruženjima u kojima malo drugih eukariotskih organizama može preživjeti. Prirodne populacije korova koje rastu na stijenama, kroz pukotine u kamenu za popločavanje i u pustinjским uvjetima samo su neki od ilustrativnih primjera. Neke biljne vrste su se prilagodile rastu u tlima zagađenim otrovnim metalima a postoje i izvješća o biljkama koje su sposobne akumulirati životinjske ili sintetske estrogene: močvarni makrofiti, lisnato povrće i alge zajedno s topolom, kukuruzom i vrbom. Na primjer, u laboratorijskoj studiji, *Scirpus validus* (močvarna biljka koja izranja na vodenu površinu) i *Populus deltoides nigra* (močvarna biljka), smanjile su koncentraciju 17β-E2, E1, E3 i EE2 u otopini putem transformacije što ukazuje na učinkovit unos estrogene u korijenska tkiva (Bircher, 2011).

Fitoakumulativne biljke dijele zajedničko svojstvo preuzimanja potencijalno štetnih molekula kroz transportne sustave koji normalno obrađuju hranjive tvari, a izdvajaju toksične tvari u biljnu vakuolu. Tako su biljke razvile relativno jedinstvenu metodu preuzimanja i postavljanja otrovnih tvari na mjesta koja nisu štetna za njihov metabolizam. Korištenje je najvažniji dio biljke za upijanje hranjivih tvari iz tla, a također apsorbira organske kontaminante iz vode i tla. U studijama unosa neioniziranih kontaminanata iz kulture otopine identificirana su dva koraka.

Prvo, uspostavlja se ravnoteža između koncentracije hranjivih tvari ili zagađivača u vodenoj fazi unutar korijena biljke i vanjske otopine tla, i drugo, dolazi do kemijske adsorpcije na lipofilna tijela. Te krutine sadrže lipide koji se vežu za membrane i stanične stijenke (Collins i sur., 2011). Neionski organski kontaminanti lako prolaze kroz staničnu membranu i stoga imaju veći potencijal da ih korijenje preuzme. Oni se iz korijenja prenose protokom vode kroz biljku zbog gradijenta potencijala vode i tako se akumuliraju u najvećoj koncentraciji u lišću (Collins i sur., 2011). Doista, organski (hidrofobni) kontaminanti imaju veći potencijal da se pregrade u lipide korijenja biljaka od hidrofilnih kontaminanata. Uglavnom se koeficijent raspodjele oktanol-voda koristi kao zamjena za mjerenje tendencije vezanja zagađivača za lipide. Neionizirani kontaminant s $\log K_{ow}$ većim od 4 ima najveći potencijal za zadržavanje u korijenu biljke. Ostali dodatni parametri kao što su pKa kontaminanta, pH, ionska jakost, biorazgradnja i adsorpcija također mogu utjecati na unos (Collins i sur., 2011).

Na unos organskih kontaminanata iz tla u biljke snažno utječe njihova koncentracija u prazninama između tla i vode. Na koncentraciju ovih zagađivača mogu utjecati: pH tla, otopljeni organski ugljik i redoks potencijal vode u porama koji može neizravno utjecati na pasivno upijanje. Zagađivači se mogu vezati za nekoliko komponenti u tlu uključujući gline, željezne okside i druge organske tvari.

2.6.1. PRIJENOS TVARI OD KORIJENA DO OSTALIH DIJELOVA BILJKE

Struktura korijena biljke dobro je poznata i sastoji se od epiderme, korteksa, endoderme i vaskularnog tkiva koje sadrži ksilem i floem. Voda i otopljene tvari kreću se prema gore iz korijena u druge dijelove biljke kroz ksilem protokom mase zbog gradijenta tlaka stvorenog u cijeloj biljci tijekom transpiracije. Da bi kontaminanti unešeni kroz korijenje biljke došli do ksilema, moraju proći kroz više slojeva: epidermis, korteks, endodermis i pericikl. U endodermisu sva otapala moraju proći staničnu membranu, a kombinacija njihove topljivosti u vodi i njihove topljivosti u staničnoj membrani endodermisa bogatoj lipidima utječe na njihovo potencijalno kretanje u korijenje i transport u druge dijelove biljke putem ksilema (Collins i sur., 2011). Voda i otopljene tvari koje se prenose u ksilemu također mogu difundirati bočno u obližnje slojeve. Koncentracija onečišćenja može biti visoka u izdancima biljaka kao rezultat uravnoteženja vodene faze i raspodjele u lipofilne krutine. Ostali utjecajni čimbenici uključuju: brzinu upijanja korijena, koncentraciju lipofilnih čvrstih tvari i transpiracijski tok biljke.

2.7. AKUMULACIJA ESTROGENA U BILJKAMA

Niz nedavnih radova opisuje studije unosa estrogena u biljke. Ispitivanja šarže i kontinuiranog protoka koja uključuju otpadnu vodu pokazala su da alge i vodena leća igraju ključnu ulogu u uklanjanju estrogena (Shi i sur., 2010). U klijancima kukuruza mjeren je unos dva prirodna steroidna estrogena, 17β -E2 i E3 te dva sintetička estrogena. Sva četiri su detektirana u korijenu u koncentracijama do $0,19 \mu\text{M}$, ali samo je 17β -E2 prenesen u izdanak (Card i sur., 2013). Pješčana vrba i *Arabidopsis thaliana* također aktivno uklanjaju estrogene iz otopina. Obje biljke uzgojene u mediju zagađenom estrogenom eliminirale su 86% sintetskog estrogena, 17α -etinil estradiola (EE2) unutar 24 sata (Franks, 2006). U hidroponskoj studiji u Osaki, Japan, stotinu različitih vrsta vrtnih biljaka testirano je na fenole i EDC: *Portulaca oleracea* bila je jedini učinkovit fitoremedijator, uklonila je 17β -estradiol unutar 24 sata (Imai i sur., 2007). U drugoj studiji, steroidni estrogene određeni su u voću i povrću nabavljenom s lokalnih tržnica u Fort Pierceu, FL, SAD. Značajne koncentracije estrogena primijećene su u povrću, posebno u salati. 17β -E2 u povrću i voću bila je 1,3 do $2,2 \mu\text{g}/\text{kg}$. Prema Zajedničkom FAO/WHO stručnom odboru za prehrambene aditive, toksična razina dnevnog unosa 17β -estradiola za odrasle osobe od 60 kg je $3,0 \mu\text{g}/\text{dan}$. a za dijete do 10 kg je $0,5 \mu\text{g}/\text{dan}$. Jasno je da je u ovoj studiji koncentracija 17β -E2 premašila preporučenu granicu za djecu (Lu i sur., 2012).

2.7.1. UTJECAJ ESTROGENA NA RAST BILJAKA

Razna istraživanja su proučavala utjecaj vanjskih steroidnih hormona na klijanje sjemenja i razvoj biljke. Rast korijenja kod krumpira (*Solanum tuberosum* L.) te veličina gomolja se smanjila pri 0,1 do $10 \text{ mg}/\text{L}$ prisutnih E1, 17β -E2 i E3 (Brown, 2006). S druge strane, rast sadnica kukuruza je neprekidno bio inhibiran pri $10 \text{ mg}/\text{L}$ ali je stimuliran sa $0,1 \text{ mg}/\text{L}$ 17β -E2 (Bowlin, 2014). U sadnicama rajčice, estron i 17β -estradiol u koncentraciji od 1 mM u Hoaglandovoj otopini smanjili su rast kao i broj korijena (Janeczko i Skoczowski, 2011). Stimulaciju rasta također je inducirao E2 pri 10^{-9} M u klijajućem slanutku. Stoga je prilično dosljedan zaključak da bi estrogene u niskim koncentracijama mogli biti korisni u poljoprivredi prevladavajući probleme mirovanja s kojima se suočavaju neke biljne vrste (Erdal i Dumlupinar, 2010).

Estrogeni imaju i druge pozitivne i negativne učinke ovisne o koncentraciji na rast biljaka. U leći je tretman 17β -E2 poboljšao rast embrija i poboljšao otpornost na stres izazvan prisutnošću kadmija i bakra tijekom klijanja (Chaoui i El Ferjani, 2013). Međutim, kod korova *Arabidopsis thaliana* prirodni estrogeni E1, 17β -E2 i E3 u količini od 0,1 mM smanjili su broj generativnih biljaka (Janeczko i sur., 2003).

Suprotno tome, nedavna studija u Švedskoj istaknula je negativne učinke EE2 (koncentracije od 7 μ M) na rast i fotosintezu zelene alge *Chlamydomonas reinhardtii*. Pocock i Falk (2014) zaključili su da je ispuštanje EE2 u tok otpadne vode imalo štetan učinak ne samo zbog uklanjanja atmosferskog CO₂, već i zbog inhibicije rasta algi.

2.7.2. UTJECAJ ESTROGENA NA ANTIOKSIDATIVNU AKTIVNOST BILJAKA

Reaktivne vrste kisika nastaju kao normalni produkt povezan sa staničnim metabolizmom biljaka. Razni stresovi u okolišu uzrokuju prekomjernu proizvodnju ovih reaktivnih vrsta što dovodi do progresivne oksidativne ozljede i konačno smrti stanica. Detoksikacija povezana s viškom reaktivnih vrsta kisika obično se postiže učinkovitim antioksidativnim sustavom koji se sastoji od neenzimskih i enzimskih antioksidansa (Genisel i sur., 2013).

Zanimljivo je da nekoliko nedavnih izvješća pruža dokaze da estrogeni mogu ublažiti neke od simptoma povezanih s oksidativnim oštećenjima izazvanim toksičnim metalima. U kukuruзу i slanutku, tretman egzogenim androsteronom značajno je smanjio oksidacijska oštećenja uzrokovana stresom hlađenja te je došlo do povećanja razina antioksidativnih enzima, uključujući superoksid dismutaze, guajacol peroksidaze, katalaze, askorbat peroksidaze i glutation reduktaze (Genisel i sur., 2013). Slično tome, β -estradiol ima pospješujući učinak na rast sjemena kukuruza koje pati od oksidativnog oštećenja izazvanog prevelikom količinom soli tako da ponovno pojačava antioksidativne aktivnosti enzima (Erdal i Dumlupinar, 2011). Rast korijena, sadržaj olova, sadržaj proteina, aktivnost amilaze i antioksidacijska aktivnost mjereni su u sjemenkama pšenice pod stresom od olova u prisutnosti 17β -estradiola. Još jednom, estrogen je potisnuo oksidativno oštećenje izazvano olovom. Također je bilo manje oštećenja DNK u klijancima pšenice izloženim olovu, ali tretiranim s 17β -E2 (Genisel i sur., 2015). Nadalje, u sjemenu graha, EE2 je inducirao antioksidacijsku enzimsku aktivnost i značajno smanjio stupanj peroksidacije lipida i snizio endogene razine vodikovog peroksida (Erdal, 2009). Dakle, ovisno o koncentraciji estrogeni mogu poticati ili inhibirati rast, te popravak oksidativnih oštećenja kod različitih biljaka.

3. ZAKLJUČCI

1. Estrogeni spojevi zbog svojeg djelovanja trebali bi biti navedeni kao toksični organski onečišćivači;
2. Potrebno su dodatna istraživanja širom svijeta kako bi se prikupili podaci o razinama estrogena u različitim sustavima;
3. Onečišćenje estrogenima pokazuje brojne negativne učinke na rast i razvoj ljudi, životinja i biljaka. Potrebno je posvetiti veću pozornost ovom pitanju i puno detaljnije istražiti točan mehanizam djelovanja;
4. Uloga estrogenih spojeva u biološkim sustavima je dvojaka te je u tom smislu potrebno odrediti razine koje se mogu tolerirati.

4. POPIS LITERATURE

- Adeel, M., Song, X., Wang, Y., Francis, D., & Yang, Y. (2017). Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review. *Environment international*, *99*, 107-119.
- Andaluri, G., Suri, R. P., & Kumar, K. (2012). Occurrence of estrogen hormones in biosolids, animal manure and mushroom compost. *Environmental Monitoring and Assessment*, *184*(2), 1197-1205.
- Anderson, P. D., Johnson, A. C., Pfeiffer, D., Caldwell, D. J., Hannah, R., Mastrocco, F., ... & Williams, R. J. (2012). Endocrine disruption due to estrogens derived from humans predicted to be low in the majority of US surface waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *31*(6), 1407-1415.
- Arnold, K. E., Brown, A. R., Ankley, G. T., & Sumpter, J. P. (2014). Medicating the environment: assessing risks of pharmaceuticals to wildlife and ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *369*(1656), 20130569.
- Avberšek, M., Šömen, J., & Heath, E. (2011). Dynamics of steroid estrogen daily concentrations in hospital effluent and connected waste water treatment plant. *Journal of Environmental Monitoring*, *13*(8), 2221-2226.
- Bartelt-Hunt, S. L., Snow, D. D., Kranz, W. L., Mader, T. L., Shapiro, C. A., Donk, S. J. V., ... & Zhang, T. C. (2012). Effect of growth promotants on the occurrence of endogenous and synthetic steroid hormones on feedlot soils and in runoff from beef cattle feeding operations. *Environmental Science & Technology*, *46*(3), 1352-1360.
- Bircher, S. (2011). *Phytoremediation of natural and synthetic steroid growth promoters used in livestock production by riparian buffer zone plants* (Doctoral dissertation, The University of Iowa).

- Biswas, S., Shapiro, C. A., Kranz, W. L., Mader, T. L., Shelton, D. P., Snow, D. D., ... & Ensley, S. (2013). Current knowledge on the environmental fate, potential impact, and management of growth-promoting steroids used in the US beef cattle industry. *Journal of soil and water conservation*, 68(4), 325-336.
- Blanchfield, P. J., Kidd, K. A., Docker, M. F., Palace, V. P., Park, B. J., & Postma, L. D. (2015). Recovery of a wild fish population from whole-lake additions of a synthetic estrogen. *Environmental science & technology*, 49(5), 3136-3144.
- Bowlin, K. M. (2014). Effects of β -estradiol on Germination and Growth in *Zea mays* L. Northwest Missouri State University.
- Brown, G. S. (2006). The Effects of Estrogen on the Growth and Tuberization of Potato Plants (*Solanum tuberosum* cv. 'Iwa') Grown in Liquid Tissue Culture Media.
- Burton, J. L., & Wells, M. (2002). The effect of phytoestrogens on the female genital tract. *Journal of clinical pathology*, 55(6), 401-407.
- Card, M. L., Schnoor, J. L., & Chin, Y. P. (2013). Transformation of natural and synthetic estrogens by maize seedlings. *Environmental science & technology*, 47(10), 5101-5108.
- Carr, D. L., Morse, A. N., Zak, J. C., & Anderson, T. A. (2011). Microbially mediated degradation of common pharmaceuticals and personal care products in soil under aerobic and reduced oxygen conditions. *Water, Air, & Soil Pollution*, 216(1), 633-642.
- Chaoui, A., & El Ferjani, E. (2013). β -Estradiol protects embryo growth from heavy-metal toxicity in germinating lentil seeds. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(3), 636-645.
- Collins, C. D., Martin, I., & Doucette, W. (2011). Plant uptake of xenobiotics. In *Organic xenobiotics and plants* (pp. 3-16). Springer, Dordrecht.

- Czajka, C. P., & Londry, K. L. (2006). Anaerobic biotransformation of estrogens. *Science of the total environment*, 367(2-3), 932-941.
- Donk, E. V., Peacor, S., Grosser, K., Senerpont Domis, L. N. D., & Lürling, M. (2016). Pharmaceuticals may disrupt natural chemical information flows and species interactions in aquatic systems: ideas and perspectives on a hidden global change. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 91-105.
- Erdal, S. (2009). Effects of mammalian sex hormones on antioxidant enzyme activities, H₂O₂ content and lipid peroxidation in germinating bean seeds. *J. Fac. Agric*, 40, 79-85
- Erdal, S., & Dumlupinar, R. (2010). Progesterone and β -estradiol stimulate seed germination in chickpea by causing important changes in biochemical parameters. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 65(3-4), 239-244.
- Erdal, S., & Dumlupinar, R. (2011). Mammalian sex hormones stimulate antioxidant system and enhance growth of chickpea plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(3), 1011-1017.
- Franks, C. G. (2006). *Phytoremediation of pharmaceuticals with Salix exigua* (Doctoral dissertation, Lethbridge, Alta.: University of Lethbridge, Faculty of Arts and Science, 2006).
- Genisel, M., Türk, H., & Erdal, S. (2013). Exogenous progesterone application protects chickpea seedlings against chilling-induced oxidative stress. *Acta physiologiae plantarum*, 35(1), 241-251.
- Genişel, M., Türk, H., Erdal, S., Demir, Y., Genc, E., & Terzi, I. (2015). Ameliorative role of β -estradiol against lead-induced oxidative stress and genotoxic damage in germinating wheat seedlings. *Turkish Journal of Botany*, 39(6), 1051-1059.
- Goeppert, N., Dror, I., & Berkowitz, B. (2015). Fate and transport of free and conjugated estrogens during soil passage. *Environmental Pollution*, 206, 80-87..

- Hallgren, P., Nicolle, A., Hansson, L. A., Brönmark, C., Nikoleris, L., Hyder, M., & Persson, A. (2014). Synthetic estrogen directly affects fish biomass and may indirectly disrupt aquatic food webs. *Environmental toxicology and chemistry*, 33(4), 930-936.
- Hamid, H., & Eskicioglu, C. (2012). Fate of estrogenic hormones in wastewater and sludge treatment: A review of properties and analytical detection techniques in sludge matrix. *Water Research*, 46(18), 5813-5833.
- Hanselman, T. A., Graetz, D. A., & Wilkie, A. C. (2003). Manure-borne estrogens as potential environmental contaminants: a review. *Environmental science & technology*, 37(24), 5471-5478.
- Hotchkiss, A. K., Rider, C. V., Blystone, C. R., Wilson, V. S., Hartig, P. C., Ankley, G. T., ... & Gray, L. E. (2008). Fifteen years after “Wingspread”—environmental endocrine disruptors and human and wildlife health: where we are today and where we need to go. *Toxicological Sciences*, 105(2), 235-259.
- Imai, S., Shiraishi, A., Gamo, K., Watanabe, I., Okuhata, H., Miyasaka, H., ... & Hirata, K. (2007). Removal of phenolic endocrine disruptors by *Portulaca oleracea*. *Journal of bioscience and bioengineering*, 103(5), 420-426.
- Janeczko, A., & Skoczowski, A. (2005). Mammalian sex hormones in plants. *Folia Histochemica et cytobiologica*, 43(2), 71-79.
- Janeczko, A., Filek, W., Biesaga-Kościelniak, J., Marcińska, I., & Janeczko, Z. (2003). The influence of animal sex hormones on the induction of flowering in *Arabidopsis thaliana*: comparison with the effect of 24-epibrassinolide. *Plant cell, tissue and organ culture*, 72(2), 147-151.
- Kjaer, J., Olsen, P., Bach, K., Barlebo, H. C., Ingerslev, F., Hansen, M., & Sørensen, B. H. (2007). Leaching of estrogenic hormones from manure-treated structured soils. *Environmental Science & Technology*, 41(11), 3911-3917.

- Kolodziej, E. P., & Sedlak, D. L. (2007). Rangeland grazing as a source of steroid hormones to surface waters. *Environmental science & technology*, *41*(10), 3514-3520.
- Kostich, M., Flick, R., & Martinson, J. (2013). Comparing predicted estrogen concentrations with measurements in US waters. *Environmental Pollution*, *178*, 271-277.
- Laurenson, J. P., Bloom, R. A., Page, S., & Sadrieh, N. (2014). Ethinyl estradiol and other human pharmaceutical estrogens in the aquatic environment: a review of recent risk assessment data. *The AAPS journal*, *16*(2), 299-310.
- LI YX, H. A. N. W., & LIN, C. (2010). Excretion of estrogens in the livestock and poultry production and their environmental behaviors. *Acta ecologica sinica*, *30*(4), 1058-1065.
- Lu, J., Wu, J., Stoffella, P. J., & Wilson, P. C. (2013). Analysis of bisphenol A, nonylphenol, and natural estrogens in vegetables and fruits using gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, *61*(1), 84-89.
- Mansell, D. S., Bryson, R. J., Harter, T., Webster, J. P., Kolodziej, E. P., & Sedlak, D. L. (2011). Fate of endogenous steroid hormones in steer feedlots under simulated rainfall-induced runoff. *Environmental Science & Technology*, *45*(20), 8811-8818.
- Nazari, E., & Suja, F. (2016). Effects of 17 β -estradiol (E2) on aqueous organisms and its treatment problem: a review. *Reviews on Environmental Health*, *31*(4), 465-491.
- Pal, A., Gin, K. Y. H., Lin, A. Y. C., & Reinhard, M. (2010). Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Science of the total environment*, *408*(24), 6062-6069.
- Petrie, B., Barden, R., & Kasprzyk-Hordern, B. (2015). A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water research*, *72*, 3-27.

- Plotan, M., Elliott, C. T., Frizzell, C., & Connolly, L. (2014). Estrogenic endocrine disruptors present in sports supplements. A risk assessment for human health. *Food chemistry*, *159*, 157-165.
- Pocock, T., & Falk, S. (2014). Negative impact on growth and photosynthesis in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in the presence of the estrogen 17 α -ethynylestradiol. *PloS one*, *9*(10), e109289.
- Prater, J. R., Horton, R., & Thompson, M. L. (2015). Reduction of estrone to 17 β -estradiol in the presence of swine manure colloids. *Chemosphere*, *119*, 642-645.
- Rodriguez-Navas, C., Björklund, E., Halling-Sørensen, B., & Hansen, M. (2013). Biogas final digestive byproduct applied to croplands as fertilizer contains high levels of steroid hormones. *Environmental pollution*, *180*, 368-371.
- Rose, E., Paczolt, K. A., & Jones, A. G. (2013). The effects of synthetic estrogen exposure on premating and postmating episodes of selection in sex-role-reversed Gulf pipefish. *Evolutionary Applications*, *6*(8), 1160-1170.
- Salla, R. F., Gamero, F. U., Rissoli, R. Z., Dal-Medico, S. E., Castanho, L. M., dos Santos Carvalho, C., ... & Costa, M. J. (2016). Impact of an environmental relevant concentration of 17 α -ethynylestradiol on the cardiac function of bullfrog tadpoles. *Chemosphere*, *144*, 1862-1868.
- Shargil, D., Gerstl, Z., Fine, P., Nitsan, I., & Kurtzman, D. (2015). Impact of biosolids and wastewater effluent application to agricultural land on steroidal hormone content in lettuce plants. *Science of the Total Environment*, *505*, 357-366.
- Shemesh, M., & Shore, L. S. (2012). Effects of environmental estrogens on reproductive parameters in domestic animals. *Isr. J. Vet. Med*, *67*, 6-10.

- Shi, W., Wang, L., Rousseau, D. P., & Lens, P. N. (2010). Removal of estrone, 17 α -ethynylestradiol, and 17 β -estradiol in algae and duckweed-based wastewater treatment systems. *Environmental Science and Pollution Research*, 17(4), 824-833.
- Sumpter, J. P., & Jobling, S. (2013). The occurrence, causes, and consequences of estrogens in the aquatic environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(2), 249-251.
- Wang, Y., Sun, Q., Li, Y., Wang, H., Wu, K., & Yu, C. P. (2019). Biotransformation of estrone, 17 β -estradiol and 17 α -ethynylestradiol by four species of microalgae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 180, 723-732.
- Wocławek-Potocka, I., Mannelli, C., Boruszewska, D., Kowalczyk-Zieba, I., Waśniewski, T., & Skarżyński, D. J. (2013). Diverse effects of phytoestrogens on the reproductive performance: cow as a model. *International journal of endocrinology*, 2013.
- Xuan, R., Blassengale, A. A., & Wang, Q. (2008). Degradation of estrogenic hormones in a silt loam soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 9152-9158.
- Ying, G. G., Kookana, R. S., & Dillon, P. (2003). Sorption and degradation of selected five endocrine disrupting chemicals in aquifer material. *Water research*, 37(15), 3785-3791.
- Ying, G. G., Kookana, R. S., & Ru, Y. J. (2002). Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. *Environment international*, 28(6), 545-551.
- Zhang, H., Shi, J., Liu, X., Zhan, X., & Chen, Q. (2014). Occurrence and removal of free estrogens, conjugated estrogens, and bisphenol A in manure treatment facilities in East China. *Water research*, 58, 248-257.
- Zheng, W., Li, X., Yates, S. R., & Bradford, S. A. (2012). Anaerobic transformation kinetics and mechanism of steroid estrogenic hormones in dairy lagoon water. *Environmental Science & Technology*, 46(10), 5471-5478.

Izjava o izvornosti

Ja MARIJA FILIPOVIĆ-GRČIĆ izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.



Vlastoručni potpis