

**UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO**

BOJANA NAJDOVSKA

MAGISTRSKA NALOGA

**ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM
FARMACIJA**

LJUBLJANA, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

BOJANA NAJDOVSKA

OCENA MOŽNEGA ENDOKRINEGA DELOVANJA
UČINKOVIN V FITOFARMACEVTSKIH
SREDSTVIH IN BIOCIDNIH PROIZVODIH,
REGISTRIRANIH V REPUBLIKI SLOVENIJI *IN*
SILICO

***IN SILICO* PREDICTION OF POTENTIAL**
ENDOCRINE DISRUPTION OF SUBSTANCES
FOUND IN PLANT PROTECTION PRODUCTS AND
BIOCIDAL PRODUCTS REGISTERED IN REPUBLIC
OF SLOVENIA

MAGISTRSKA NALOGA

LJUBLJANA, 2016

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Marije Sollner Dolenc, mag. farm..

Za strokovno pomoč in nasvete pri izdelavi magistrske naloge se zahvaljujem mentorici prof. dr. Mariji Sollner Dolenc, mag. farm.. Zahvaljujem se tudi staršem in bratu ter mojemu partnerju in njegovi družini, ki so mi v času študija stali ob strani.

Izjava:

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Marije Sollner Dolenc, mag. farm..

Ljubljana, 2016

Bojana Najdovska

VSEBINA

POVZETEK	iv
ABSTRACT	vi
SEZNAM OKRAJŠAV	viii
SEZNAM SLIK.....	xiii
SEZNAM PREGLEDNIC	xiv
SEZNAM PRILOG	xvi
1 UVOD	1
1.1 ZGRADBA IN DELOVANJE ENDOKRINEGA SISTEMA	1
1.2 SPLOŠNA PREDSTAVITEV ENDOKRINE DISRUPCIJE	3
1.3 JEDRNI RECEPTORJI KOT TARČE KPHM.....	6
1.3.1 Androgeni receptor.....	8
1.3.2 Estrogenski receptor	9
1.3.3 Glukokortikoidni receptor (GR).....	9
1.3.4 Receptorji ščitničnih hormonov	10
1.4 MEHANIZMI DELOVANJA KPHM TER NJIHOVE POSLEDICE	12
1.5 Fitofarmacevtska sredstva in biocidni proizvodi.....	13
1.5.1 Fitofarmacevtska sredstva	14
1.5.2 Biocidni proizvodi.....	15
2 NAMEN DELA	16
3 MATERIALI IN METODE	17
3.1 MATERIALI	17
3.2 METODE.....	18
3.2.1 Program "Endocrine disruptome".....	19
3.2.2 Iskanje strukture spojin.....	22
3.2.2.1 Podatkovna baza "ChemSpider"	23
3.2.2.2 Podatkovna zbirka "PubChem"	23
3.2.2.3 Podatkovna baza o lastnostih pesticidov (PPDB: Pesticide Properties DataBase)	24
3.2.2.4 Podatkovna baza o interakcijah med pesticidi in tarčami (Pesticide Target Interaction Database (PTID)).....	24
3.2.2.5 Podatkovna baza toksinov in njihovih tarč (The Toxin and Toxin Target Database (T3DB))	25
3.2.2.6 Podatkovna baza "ZINC12"	25
3.2.2.7 Kemijske entitete, ki so biološko zanimive	26
3.2.2.8 Slovear "ChemIDplus".....	26
3.2.2.9 Podatkovna baza "ChEMBL"	26
3.2.2.10 Portal " ChemDB"	27
3.2.2.11 Podatkovna baza o biopesticidih (BPDB: Bio-Pesticides Database)	27

3.2.2.12	Podatkovna baza v oblaku (Chemical Cloud Database (ChemCD)).....	28
3.2.2.13	Spletni vir "Chemicalize.org"	28
3.2.2.14	Zbrani računalniški toksikološki viri (ACToR)	28
3.2.2.15	Podatkovna baza človeškega metaboloma (The Human Metabolome Database (HMDB))	28
3.2.2.16	Podatkovna baza "SuperTarget"	29
3.2.2.17	Podatkovna baza "SuperToxic"	30
3.2.2.18	Podatkovna zbirka o kemičnem raziskovanju pesticidov (EPA – Pesticides Chemical Search)	30
3.2.3	Primerjava rezultatov pridobljenih in silico s podatki iz literature	30
3.2.4	Vrednotenje rezultatov pridobljenih s pomočjo programa Endocrine disruptome (Cooper-jeva statistika)	31
4	REZULTATI IN RAZPRAVA.....	34
4.1	SPOJINE, ZA KATERE SMO DOBILI NEGATIVNE REZULTATE	34
4.1.1	SPOJINE, ZA KATERE SMO DOBILI NEGATIVNE REZULTATE, KI SO V NASPROTJU S PODATKI IZ LITERATURE	35
4.1.2	SPOJINE, ZA KATERE V LITERATURI ŠE NI PODATKOV O NJIHOVEM ENDOKRINEM DISRUPTIVNEM DELOVANJU	39
4.2	SPOJINE, ZA KATERE SMO DOBILI POZITIVNE REZULTATE	39
4.2.1	Potrjeni / domnevni / možni endokrini motilci z rezultati (+++) in (++).....	41
4.2.2	Spojine, za katere nismo našli podatkov o endokrini disrupciji ali pa so naši izsledki v nasprotju s podatki iz literature.	57
4.3	VREDNOTENJE REZULTATOV PRIDOBLJENIH S POMOČJO PROGRAMA ENDOCRINE DISRUPTOME (ED).....	68
5	ZAKLJUČEK.....	71
6	REFERENCE	73
7	PRILOGE.....	92
	Priloga 1:	92
	Priloga 2:	93
	Priloga 3:	94
	Priloga 4:	95
	Priloga 5:	96
	Priloga 6:	97
	Priloga 7:	101
	Priloga 8:	105
	Priloga 9:	114

POVZETEK

Že nekaj desetletij narašča zaskrbljenost glede sprememb zdravja in plodnosti ljudi ter živali, ki naj bi bile povezane z motnjami v hormonskih sistemih, povzročene s kemikalijami v okolju. Po svetu vladne organizacije, komisije, odbori ter strokovne skupine poskušajo rešiti vprašanje o okoljskih endokrinih motilcih, njihovih vplivih na zdravje in okolje. Glavne ugotovitve izhajajo iz študij na ljudeh in živalih *in vitro* in *in vivo*. Novejše pristope predstavljajo metode *in silico*, ki so cenejše in hitrejše od klasičnih pristopov ter z njimi lahko preiskujemo tudi povsem hipotetične, še nesintetizirane kemikalije.

Endocrine disruptome (ED) je odprtokodni program, namenjen toksikologom in strokovnjakom za napovedovanje možnih motenj endokrinega sistema povzročene s spojinami. Uporabili smo ga za pregled vseh učinkovin, ki se nahajajo v fitofarmaceutskih sredstvih in biocidnih proizvodih, registriranih v Republiki Sloveniji ter ocenili, kakšna je verjetnost vezave teh spojin na naslednje jedrne receptorje: AR (androgeni receptor), ER α (estrogenski receptor α), ER β (estrogenski receptor β), GR (glukokortikoidni receptor), LXR α (jetrni receptor X α), LXR β (jetrni receptor X β), PPAR α , PPAR β in PPAR γ (s peroksisomskim proliferatorjem aktivirani receptorji α , β in γ), RXR α (retinoidni receptor X α) ter TR α in TR β (receptorji ščitničnih hormonov α in β).

Osredotočili smo se na spojine, ki jih je program razvrstil med tiste z visoko verjetnostjo vezave na posamezne receptorje. Rezultate smo primerjali s podatki iz študij *in vitro* in *in vivo* v literaturi ter ocenili moč napovednosti programa.

Pregledali smo 458 spojin, in sicer 264 fitofarmaceutskih sredstev ter 194 biocidnih proizvodov. Za 94 fitofarmaceutskih sredstev, od katerih jih je 14 v racemni obliki, nismo našli literaturnih podatkov o endokrinem delovanju, prav tako ne za 124 biocidnih proizvodov, od katerih jih je 17 v racemni obliki. Spojine, pri katerih je vsaj za en receptor njena vezava razvrščena v rdeči razred in za katere še ni podatkov v literaturi, predstavljajo tveganje za zdravje. Program Endocrine disruptome je prepoznal 11 takih spojin (9 iz seznama fitofarmaceutskih sredstev in 2 iz seznama biocidnih proizvodov). Uspešnost napovedi afinitete vezave bi lahko potrdili najprej s testi na celičnih linijah *in vitro*, ki

imajo izražene posamezne jedrne receptorje ter nadaljevali s kompleksnejšimi testi *in vivo* ter tako popolno ocenili potencialno endokrino delovanje teh spojin.

Ključne besede: Endocrine disruptome, vrednotenje napovednosti, metode *in silico*, hormonski motilci, jedrni receptorji.

ABSTRACT

For several decades there have been growing concerns regarding changes in the health and fertility of humans and animals associated with disruption of hormonal systems caused by chemicals in the environment. Worldwide government organizations, committees, board and expert groups are trying to resolve the issue of environmental endocrine disruptors, their effects on health and the environment. The main findings are resulting from the *in vitro* and *in vivo* assays on humans and animals. Newer approaches represent the *in silico* methods, which are cheaper and faster and can work on hypothetical not yet synthesised chemicals.

Endocrine disruptome (ED) is an open source program designed for toxicologists and experts to predict possible endocrine disruption caused by compounds in the environment. We used the program to review all active substances in plant protection products and biocidal products registered in Republic of Slovenia and assess the probability of binding of the said substances to these receptors: AR (androgen receptor), ER α (estrogen receptor α), ER β (estrogen receptor β), GR (glucocorticoid receptor), LXR α (liver X receptor α), LXR β (liver X receptor β), PPAR α , PPAR β and PPAR γ (peroxisome proliferator activated receptors α , β and γ), RXR α (retinoid X receptor α), TR α and TR β (thyroid receptors α and β).

We focused on compounds that the program classifies between substances with a high probability of binding. We compared our results with data from *in vivo* and *in vitro* studies found in the literature and estimated the predictive power of the program.

We have reviewed 458 compounds, namely 264 substances found in plant protection products and 194 substances found in biocidal products. We have found no data in the literature regarding endocrine disruption for 94 compounds found in the plant protection products. Fourteen of those 94 compounds are racemic mixtures. There was no data in literature regarding endocrine disruption for 124 compounds found in the biocidal products, out of which 17 compounds are racemic mixtures.

Compounds for which the program assigns at least one nuclear receptor in the "red" class and for which there is no data in the literature regarding endocrine disruption, represent a health risk. Endocrine disruptome has identified 11 such substances (9 substances from the plant protection products and 2 from the biocidal products). Successful prediction of binding affinity at first could be confirmed by *in vitro* tests on cell lines which have

expressed nuclear receptors and then with more complex *in vivo* tests that could fully establish compounds' status as endocrine disruptors.

Key words: Endocrine disruptome, evaluation of prediction capacity, endocrine disruption, endocrine disruptors, *in silico* methods, nuclear receptors.

SEZNAM OKRAJŠAV

2,4-D	2,4-Diklorofenoksiocetna kislina
9CRA	9-Cis retinojske kisline
ACTH	Kortikotropin
ACToR	Zbrani računalniški toksikološki viri
AD	Avtonomne transaktivacijske domene
ADH	Antidiuretični hormon, vazopresin
ADME	Absorpcija (vsrkavanje), distribucija (porazedelitev), metabolizem (presnova), eliminacija (izločanje)
AERU	Raziskovalna enota za kmetijstvo in okolje
AF-1	Aktivacijska funkcija 1
AF-2	Aktivacijska funkcija 2
ANP	Atrijski natriuretični peptid
AR	Androgeni receptor
AR(an)	Androgeni receptor (antagonist)
ARE	Na androgen - odzivni element
ASC-2	Aktivator signala kointegratorja-2
ATRA	Vse-trans retinojska kislina
AUC	Površina pod krivuljo
BPDB	Podatkovna baza o biopesticidih
CAR	Konstitutivni androstanski receptor
CAS	Enoznačen številčni identifikator kemijskih elementov (angl. Chemical Abstracts Service Registry Number)
CCK	Holecistokinin
ChEBI	Kemijske entitete biološkega zanimanja (angl. Chemical Entities of Biological Interest)
ChemCD	Podatkovna baza v oblaku
CRH	Kortikoliberin
COUP-TF	Transkripcijski faktor COUP (angl. COUP Transcription Factor)
CpG	Citozin-Gvanin mesto
CYP 450	Citokrom P 450

CŽS	Centralni živčni sistem
D-box	Distalno ali oddaljeno zaporedje (angl. Distal box)
DBD	DNK-vezoča domena
DCCA	Cis-/trans-3-(2,2-diklorovinil)-2,2-dimetilciklopropan karboksilna kislina
DNK	Deoksiribonukleinska kislina
DoTS	Spletni vmesnik za ciljne sisteme (angl. Docking Interface for Target Systems)
E2	Estradiol
ED	Endocrine disruptome
EDC DataBank	Podatkovna baza endokrinih motečih spojin
EFSA	Evropska agencija za varnost hrane
EPA	Agencija za varstvo okolja, ZDA
ER α	Estrogenski receptor α
ER α (an)	Estrogenski receptor α (antagonist)
ER β	Estrogenski receptor β
ER β (an)	Estrogenski receptor β (antagonist)
ERE	Na estrogen - odzivni element
ERR	Estrogenskemu receptorju podoben receptor α
FFS	Fitofarmacevtska sredstva
FSH	Folikel-stimulirajoči hormon
FXR	Receptor žolčne kisline (angl. Farnesoid X Receptor)
GA3	Giberelinska kislina
GCNF	Jedrni faktor zarodnih celic (angl. Germ Cell Nuclear Factor)
GHRH	Somatoliberin
GHIH	Rastni hormon-inhibitorni hormon
GnRH	Gonadoliberin
GR	Glukokortikoidni receptor
GR(an)	Glukokortikoidni receptor (antagonist)
GRE	Na glukokortikoid - odzivni element
HCG	Človeški horionski gonadotropin
HDAC	Histonska diacetilaza
HMDB	Podatkovna baza človeškega metaboloma

HNF 4	Hepaticidni jedrni faktor 4 (angl. Hepatocyte Nuclear Factor 4)
HRE	Hormonsko odzivni elementi
InChi	Mednarodni kemijski identifikator IUPAC (angl. IUPAC International Chemical Identifier)
IUPAC	Mednarodna zveza za čisto in uporabno kemijo
Kpb	Kilo-baznih parov
KPHM	Kemijski povzročitelji hormonskih motenj
LBD	Ligand-vezoča domena
LH	Luteinizirajoči hormon
LXR α	Jetrni X receptor α (angl. Liver X Receptor α)
LXR β	Jetrni X receptor β (angl. Liver X Receptor β)
MCPA-DMA	2-Metil-4-klorofenoksiocetna kislina, dimetilaminska sol
MCPP	Mekoprop-P
MR	Mineralokortikoidni receptor
MRSA	Proti meticilinu odporni <i>Styphylococcus aureus</i>
NCBI	Nacionalni center za biotehnoške informacije
NIOSH	Nacionalni inštitut za varnost in zdravje pri delu
NLM	Nacionalna medicinska knjižnica
NPV	Negativna napovedna vrednost (angl. Negative Predictive Value)
NOR1	Nevronski receptor sirot 1 (angl. Neuron-Derived Orphan Receptor 1)
NURR1	Jedrnemu receptorju podoben protein 1 (angl. Nuclear Receptor Related 1 Protein)
NUR77	Živčni rastni faktor IB (angl. Nerve Growth Factor IB)
NuRE	Odzivni element podružine jedrnih receptorjev (angl. Nur Response Element)
P-box	Proksimalno ali bližnje zaporedje (angl. Proximal box)
PAHs	Policiklični aromatični ogljikovodiki (angl. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)
PAINS	Opozarjanje o spojinah, ki motijo in vitro teste (angl. Pan-assay Interference Compounds)
PCB	Poliklorirani bifenil (angl. Polychlorinated Biphenyl)
PCN	Pregnan-16 α -karbonitril (angl. Pregnenolone-16 α -carbonitrile)
PIH	Prolaktin inhibitorni hormon

PNR	Jedrni receptor fotoreceptornih celic (angl. Photoreceptor Cell-Specific Nuclear Receptor)
PR	Progesteronski receptor
PPAR α	Receptor, aktiviran s proliferatorjem peroksisomov α (angl. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α)
PPAR β	Receptor, aktiviran s proliferatorjem peroksisomov β (angl. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor β)
PPAR γ	Receptor, aktiviran s proliferatorjem peroksisomov γ (angl. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ)
PPDB	Podatkovna baza o lastnostih pesticidov
PPV	Pozitivna napovedna vrednost (angl. Positive Predictive Value)
PTH	Parathormon
PTID	Podatkovna baza o interakcijah med pesticidi in tarčami
PXR	Pregnan X receptor
RA	Retinoidna kislina
RAR	Receptor retinoidne kisline
ROC	Karakteristika delovanja sprejemnika (angl. Receiver Operating Characteristics)
ROR	Retinoidnemu receptorju podoben receptor sirote (angl. Retinoid Related Orphan Receptor)
RSC	Kraljeva kemijska družba
RXR α	Retinoidni X receptor α
SE	Občutljivost (angl. Sensitivity)
SERM	Selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev
SF-1	Steroidogeni faktor-1
SMARTS	Arbitrarna tarčna specifikacija po SMILES (angl. Smiles Arbitrary Target Specification)
SMILES	Poenostavljen enovrstični sistem za vstavljanje molekul (angl. Simplified Molecular-Input Line-Entry System)
SP	Specifičnost (angl. Specificity)
SRC-1	Koaktivator steroidnih receptorjev-1
SXR	Ksenobiotični receptor
T3	Trijodotironin
T4	Tiroksin
T3DB	Podatkovna baza toksinov in tarč toksinov
TEDX	Seznam potencialnih endokrinih motilcev Centrale endokrinih motenj
TIF	Dejavniki transkripcijskega posredovanja

TLX	Jedrni receptor tailless
TMIC	Center za metabolomske inovacije
ToxCard	Toksinska kartica
TR2,4	Testikularni receptor 2,4
TR α	Receptor ščitničnih hormonov α
TR β	Receptor ščitničnih hormonov β
TRE	Na ščitnični hormon odzivni element
TRH	Tiroliberin
TSH	Tirotropin
UCSF	Univerza Kalifornije, San Francisko
VDR	Receptor vitamina D
VSDB	Podatkovna baza veterinarskih substanc
qHTS	Kvantitativno visoko zmogljivo reševanje (angl. Quantitative High-Throughput Screening)

SEZNAM SLIK

Slika 1: Napovedna stran programa Endocrine disruptome.

Slika 2: Primer prikaza rezultatov sidranja za bisfenol A.

Slika 3: Žleze, tkiva in organi, ki so vključeni v endokrini sistem.

Slika 4: Aktivacija tarčne celice z različnimi tipi hormonov.

Slika 5: Odziv celice na steroidne in nesteroidne hormone.

Slika 6: Vpliv kemikalij v okolju na razvoj foliklov ter posledice za žensko plodnost.

SEZNAM PREGLEDNIC

Preglednica I: Klasifikacija jedrnih receptorjev.

Preglednica II: Podružine jedrnih receptorjev, ki temeljijo na različnih vrstah ligandov.

Preglednica III: Predstavitev uspešnosti modela.

Preglednica IV: Definicija in izračun parametrov za oceno uspešnosti modela.

Preglednica V: Spojine, za katere smo dobili negativne rezultate.

Preglednica VI: Spojine, za katere smo dobili pozitivne rezultate in tiste med njimi, ki so potrjeni/domnevni/možni endokrini motilci.

Preglednica VII Razdelitev spojin, ki predstavljajo potrjene / domnevne / možne endokrine motilce, v ustrezno skupino pesticidov (fitofarmacevtska sredstva in biocidni proizvodi).

Preglednica VIII: Rezultati, dobljeni s testiranjem beta-ciflutrina in ciflutrina s programom ED.

Preglednica IX: Rezultati testiranja teflutrina s programom ED.

Preglednica X: Rezultati testiranja fluazinama s programom ED.

Preglednica XI: Rezultati testiranja lambda-cihalotrina in cihalotrina s programom ED.

Preglednica XII: Rezultati testiranja epoksikonazola s programom ED.

Preglednica XIII: Razdelitev spojin iz skupine pesticidov (fitofarmacevtska sredstva in biocidni proizvodi).

Preglednica XIV: Rezultati testiranja kumatetralila s programom ED.

Preglednica XV: Rezultati testiranja fluopirama s programom ED.

Preglednica XVI: Rezultati testiranja diflufenikan s programom ED.

Preglednica XVII: Rezultati testiranja giberelinov A4 in A7 s programom ED.

Preglednica XVIII: Rezultati testiranja ciflufenamida s programom ED.

Preglednica XIX: Rezultati testiranja fenmedifama s programom ED.

Preglednica XX: Rezultati testiranja metaflumizona s programom ED.

Preglednica XXI: Rezultati testiranja tritosulfurona s programom ED.

Preglednica XXII: Rezultati testiranja florasulama s programom ED.

Preglednica XXIII: Rezultati testiranja transflutrina s programom ED.

Preglednica XXIV: Rezultati testiranja bromadiolona s programom ED.

Preglednica XXV: Rezultati testiranja alfa-ciano-3-fenoksibenzil-2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciklopropankarboksilata s programom ED.

Preglednica XXVI: Rezultati testiranja kvinoksifena s programom ED.

Preglednica XXVII: Rezultati testiranja beflubutamida s programom ED.

Preglednica XXVIII: Spojine, za katere še ni podatkov v literaturi in za katere je program napovedal pozitiven rezultat vezave (+++) na vsaj en receptor.

Preglednica XXIX: Prikaz načina ugotavljanja uspešnosti modela.

Preglednica XXX: Določanje napovedne občutljivosti, specifičnosti in točnosti programa ED, na osnovi rezultatov testiranih spojin.

Preglednica XXXI: Podrobnejša predstavitev hormonov, iz katerega tkiva/žleze se ti izločajo, njihove glavne funkcije ter kemična zgradba.

Preglednica XXXII: Rezultati testiranja s pomočjo programa Endocrine disruptome za vse preizkušane spojine.

Preglednica XXXIII: Razvrstitev spojin, pri katerih smo dobili pozitivne rezultate.

SEZNAM PRILOG

Priloga 1: Žleze, tkiva in organe, ki so vključene v endokrinem sistemu.

Priloga 2: Podrobnejša predstavitev hormonov, iz katerega tkiva/žleze se ti izločajo, njihove glavne funkcije ter kemična zgradba.

Priloga 3: Aktivacija tarčne celice z različnimi tipi hormonov.

Priloga 4: Odziv celice na steroidni in nesteroidni hormon.

Priloga 5: Vpliv kemikalij v okolju na razvoj foliklov ter posledice za žensko plodnost.

Priloga 6: Jetrni receptor X, s peroksisomskim proliferatorjem aktivirani receptorji (PPAR) in retinoidni receptor (Retinoidni X receptor).

Priloga 7: Register biocidnih proizvodov.

Priloga 8: Rezultati testiranja s pomočjo programa Endocrine disruptome za vse preizkušane spojine.

Priloga 9: Razvrstitev spojin, pri katerih smo dobili pozitivne rezultate.

1 UVOD

Ljudje in ostala živa bitja na Zemlji so vse bolj izpostavljeni obsežni paleti sintetičnih in naravnih kemikalij. Toksikologija je bila kot znanost prvotno osredotočena na neželene učinke zdravil in druge terapevtske učinke v populaciji bolnikov, sedaj pa proučuje tudi škodljive učinke kemikalij, ki jih uporabljamo v industriji in najdemo v okolju. Omenjene spojine so lahko kovine, anorganske in kompleksne organske molekule, prav tako pa novi materiali, kot so nanodelci. V preteklosti so bile zdravju nevarne zlasti težke kovine, kot so: arzen, svinec in živo srebro. V kmetijstvu so lahko taki pesticidi (herbicidi, fungicidi, insekticidi, algicidi, rodenticidi, moluscidi ter akaricidi), v kemični industriji pa predvsem: topila, kovine, intermediati kemične proizvodnje ali proizvodnja sestavin izdelkov, kot so na primer nanomateriali [1].

1.1 ZGRADBA IN DELOVANJE ENDOKRINEGA SISTEMA

Endokrini sistem je ključen dejavnik za razvoj in rast različnih tkiv in organov ter vzdrževanje homeostaze. Endokrine poti so tesno povezane z medcelično komunikacijo in vključujejo izločanje molekule iz enega tipa celic, ki vpliva na druge celice v istem tkivu / organu ali v oddaljenih mestih v organizmu [2]. Endokrino signaliziranje je proces, v katerem se hormoni iz endokrinih organov sproščajo v cirkulacijo, transportirajo do tarčnih tkiv, se vežejo na receptorje v tarčnih celicah in vplivajo na njihovo nadaljnjo aktivnost. V zadnjih nekaj desetletjih narašča število dokazov, da veliko naravnih in sinteznih kemikalij, ki so zdaj znane pod imenom hormonski disruptorji (motilci) ali kemijski povzročitelji hormonskih motenj (KPHM), lahko spremenijo endokrino signaliziranje z oponašanjem ali inhibicijo delovanja endogenih hormonov ali s kakršnim koli drugim vplivom na njihovo normalno homeostazo [3].

Delovanje celic, tkiv in organov koordinira več vrst medsebojno prepletenih sistemov kemičnih prenašalcev. Mednje uvrščamo:

- **nevrotransmiterje**, ki prenašajo informacije med nevroni preko sinaps. Sproščajo se iz terminalnega aksona presinaptičnega nevrona v sinaptično režo in delujejo lokalno za nadzor funkcij živčne celice;

- **endokrine hormone**, ki se sproščajo iz žlez ali specializiranih celic v krvni obtok in ne delujejo lokalno, ampak vplivajo na funkcijo celic, ki se nahajajo v drugem delu telesa;
- **nevroendokrine hormone**, ki se sproščajo iz nevronov v krvni obtok in vplivajo na delovanje celic, ki se nahajajo v drugem delu telesa;
- **parakrine spojine**, ki se izločajo v zunajcelično tekočino in vplivajo na delovanje sosednjih celic druge vrste;
- **avtokrine spojine**, ki se prav tako izločajo v zunajcelično tekočino in vplivajo na delovanje celic, ki jih proizvajajo - delujejo tako, da se vežejo na receptorje, ki se nahajajo na celični površini [4];
- **citokini**, ki so peptidne molekule in se izločajo iz celic v zunajcelično tekočino ter imajo specifičen vpliv na interakcije in signaliziranje med celicami - lahko delujejo parakrino, avtokrino ali kot endokrini hormoni [4,5].

Žleze, tkiva in organe, ki so vključeni v endokrini sistem so predstavljeni v Prilogi 1.

Hormone razdelimo v tri splošne razrede: **peptide in proteine, steroide in amine**. Podrobnejša predstavitev hormonov, iz katerega tkiva/žleze se ti izločajo, njihove glavne funkcije ter kemično zgradbo, se nahaja v Prilogi 2. Koncentracije hormonov, potrebne za kontrolo večine metaboličnih in endokrinih funkcij, se gibljejo med 1pg in največ nekaj µg /mL krvi. Količine izločenih hormonov so izredno majhne in jih običajno merimo v µg ali mg na dan. Visoko specifični mehanizmi v tarčnih tkivih omogočajo, da v majhnih koncentracijah izvajajo močan nadzor nad fiziološkimi procesi. Vendar pa je tudi delovanje hormonov natančno nadzorovano. V večini primerov nadzor poteka preko mehanizmov negativne povratne zveze, ki zagotavljajo ustrezno raven hormonov v ciljnim tkivu. V nekaterih primerih pa se pojavi pozitivna povratna zveza, to je, kadar biološki učinek hormona povzroči dodatno izločanje le-tega [6]. Koncentracija hormona v plazmi je odvisna od stopnje njegovega izločanja iz endokrine žleze ter njegove hitrosti izločanja iz krvi [7]. Hormoni delujejo tako, da se vežejo na specifične receptorje v tarčni celici. Celice, ki nimajo teh receptorjev, so neodzivne. Vezava hormona na receptor običajno sproži kaskado reakcij v celici, pri čemer se moč vsake faze stopnjuje tako, da imajo tudi majhne koncentracije hormona velik učinek.

Hormonski receptorji so veliki proteini. Vsaka celica navadno vsebuje med 2.000-100.000 receptorjev. Lokacije različnih vrst hormonskih receptorjev so naslednje: *v ali na površini celične membrane* – ti receptorji so značilni za proteinske, peptidne ali kateholaminske

hormone; v *celični citoplazmi* – ti receptorji so značilni za steroidne hormone; v *celičnem jedru* – tu se nahajajo receptorji za ščitnične hormone in domnevajo, da so v neposredni zvezi z enim ali več hormonsko odzivnim elementom na DNK. Število receptorjev v tarčni celici ponavadi ni stalno. Spreminja se vsak dan ali celo vsako minuto. Kar naprej prehajajo v aktivirano in neaktivirano obliko, se sintetizirajo ali zaradi poškodb razgrajujejo [6].

Receptorji za peptidne in kateholaminske hormone se nahajajo na zunanji površini plazemske membrane tarčne celice. Ta lokacija je zelo pomembna, saj so ti hormoni preveliki in preveč hidrofilni, da bi difundirali preko plazemske membrane. Ko se hormon veže na receptorje, ti aktivirajo enega ali več signalov transdukcijske poti. To pomeni, da aktivirani receptorji neposredno vplivajo na: **ionske kanalčke**, ki so del receptorja; **aktivnost citoplazemskih kinaz JAK**, povezanih z receptorjem, ali na **G-proteine**, kjer pride do sklapljanja z efektorskimi proteini v plazemski membrani in tvorbe sekundarnih prenašalcev [8]. Steroidni in ščitnični hormoni ter steroidni derivat 1,25-dihidroksivitamin D so lipofilne spojine in njihovi receptorji se nahajajo v notranjosti celic. Vezava teh hormonov na receptorje povzroča aktivacijo (ali inhibicijo) transkripcije določenih genov in s tem spremembo hitrosti sinteze proteinov, ki jih ti kodirajo. Končni rezultat je povečano izločanje proteinov iz celice ali povečano (zmanjšano) delovanje določenih procesov v celici. Nekateri tarčne celice poleg znotrajceličnih receptorjev za določene steroidne hormone vsebujejo še receptorje, ki so prisotni v njihovih membranah. Po vezavi liganda ti receptorji spodbudijo hitre negenomske celične odzive, medtem ko znotrajcelični receptorji posredujejo zapoznel odziv, saj je zanj potrebna sinteza novih proteinov [9]. Aktivacija in odziv tarčne celice na različne tipe hormonov je predstavljena s Slikama 4 in 5 v Prilogah 3 in 4.

1.2 SPLOŠNA PREDSTAVITEV ENDOKRINE DISRUPCIJE

Hormonski motilci (kemijski povzročitelji hormonskih motenj - KPHM) so spojine, ki se vežejo na jedrne hormonske receptorje ali posnemajo signale endogenih hormonov ter tako spremenijo homeostazne procese v endokrinem sistemu [10]. So naravne ali sintetične spojine, ki vplivajo na sintezo, vezavo, transport, delovanje, sekrecijo ali eliminacijo hormonov [11]. Domnevajo, da ima tovrsten učinek približno 800 kemikalij, ki jih lahko uvrstimo med KPHM [12]. Imajo raznoliko kemično strukturo, večina med njimi so antropogenega izvora in so sestavino različnih materialov in izdelkov. Tvorijo se lahko kot

razgradni produkti kemikalij v okolju ter v ljudeh, živalih in rastlinah. Ljudje in živali so izpostavljeni večim KPHM hkrati, zato obstaja upravičena zaskrbljenost, da lahko več različnih KPHM deluje skupaj in povzroča povečano tveganje za pojav neželenih učinkov [13]. Mnogi KPHM so kemikalije, ki jih proizvajajo v velikih količinah in se nahajajo med drugim tudi v različnih izdelkih, s katerimi prihajamo v stik vsakodnevno. Izpostavljenost KPHM je torej vsestranska in neizogibna. Različne študije pa kažejo, da obstaja vedno večja zaskrbljenost, da onesnaženost s temi snovmi lahko prispeva k pojavu neugodnih zdravstvenih stanj, kot sta prezgodnja puberteta in neplodnost [14].

Zelo pomembno je, kdaj v življenju nastopi izpostavljenost KPHM. Kritični obdobji, ki sta še posebej občutljivi za hormonske motnje, sta razvoja urogenitalnega in živčnega sistema *in utero* ter prvi meseci življenja. Posledice učinkov KPHM v teh kritičnih obdobjih so bolj verjetno doživljenjske, saj so pri odraslih posameznikih posledice izpostavljenosti ponavadi manj izrazite zaradi hitrejšega metabolizma teh spojin in s tem hitrejšega odstranjevanja iz organizma [14]. Otroci imajo večjo izpostavljenost na kg telesne mase, v primerjavi z odraslimi, poleg tega pa nimajo popolnoma razvitih zaščitnih mehanizmov, kot so imunski sistem, detoksifikacijski encimi, jetrni metabolizem in krvno-možganska bariera. To je tudi vzrok, zakaj so poleg nosečnic najbolj občutljivi na izpostavljenost KPHM [15]. S Sliko 6 v Prilogi 5 prikazujemo vpliv kemikalij v okolju na razvoj foliklov ter posledice za žensko plodnost.

KPHM prihajajo v naše okolje skozi presenetljivo paleto nekontroliranih poti. Zaužita zdravila se po presnovi izločajo v različnih količinah z urinom ali fecesom in končajo v komunalnih kanalizacijskih čistilnih napravah, od koder vstopajo v vodne poti kot prečiščene odpadne vode. KPHM se delno lahko še zadržujejo v teh vodah, vstopajo pa predvsem v vodne ekosisteme kjer pomembno vplivajo na tam živeče organizme, predvsem ribe [16].

Približno 1,8 milijard ljudi v svetu se ukvarja s kmetijstvom in večina za zaščito rastlin, ki jih prideluje, uporablja pesticide. Svetovna poraba pesticidov v kmetijstvu je približno 2,5 milijard ton na leto. Ugotovili so, da se vsako leto kar 25 milijonov kmetijskih delavcev po vsem svetu nenamerno zastruplja s pesticidi [17].

Nacionalni program nadzora nad pesticidi v živilih in kmetijskih pridelkih se v Sloveniji izvaja že od leta 1999 in zagotavlja redno, usklajeno in sistematično preverjanje vsebnosti ostankov pesticidov v živilskih in kmetijskih proizvodih, pri čemer se nadzirajo živila, ki so najpogosteje vključena v vsakdanjo prehrano [18].

Vse večji pomen ima v Sloveniji ekološko kmetijstvo, kjer je uporaba lahko topnih mineralnih gnojil, pesticidov, gensko spremenjenih organizmov in proizvodov, pridobljenih iz teh organizmov, ter različnih regulatorjev rasti prepovedana [19]. V Sloveniji pa se izvaja tudi integrirana pridelava poljščin, sadja, grozdja in zelenjave. To je naravi prijaznejši način pridelave od običajnega, saj se z uporabo naravnih virov in mehanizmov, ki zmanjšujejo negativne vplive kmetovanja na okolje in zdravje ljudi, prideluje kakovostna in zdrava hrana [20].

Mnenje industrije, ki proizvaja sredstva za varstvo rastlin je, da morajo biti fitofarmaceutski pripravki dovoljeni za uporabo na osnovi kriterjev, ki temeljijo na oceni tveganja, ne pa na oceni nevarnosti. Ocena tveganja namreč upošteva tako nevarnost kot tudi izpostavljenost določeni substanci. Prepoved uporabe sredstev, ki temeljijo izključno na oceni nevarnosti, ne upošteva vseh znanstvenih informacij in ne zagotavlja ustrezne podlage za oblikovanje regulatorne odločbe [21].

Ocena tveganja je proces, v okviru katerega ovrednotijo tveganje za določen ciljni organizem, sistem ali (pod)populacijo, po izpostavljenosti posameznemu sredstvu, ob upoštevanju njegovih posebnih značilnosti in značilnosti ciljnega sistema. Postopek ocenjevanja tveganja vključuje štiri korake: prepoznavanje nevarnosti, opredeljevanje nevarnosti (povezan izraz je: ocena odziva na odmerek), ocena izpostavljenosti in opis tveganja [22].

V večini študij za oceno tveganja in nekaterih epidemioloških raziskavah so preučevali toksičnost in izpostavljenost eni sami spojini, vendar bi morali pri tem vključiti še dva druga vidika, in sicer prisotnost stranskih produktov pesticida (nečistot) ter kumulativno izpostavljenost večim pesticidnim ostankom. Ugotovili so, da lahko v nekaterih primerih stranski produkti pesticida izkazujejo celo večje škodljive učinke kot sam pesticid. Tako so v eni izmed študij dokazali, da so oksoni metil-parationa, klorpirifosa in diazinona 10- do 15- krat bolj strupeni za spermije (predvsem poškodujejo DNA) kot njihove starševske spojine [23].

V postopku ocenjevanja tveganja moramo obravnavati tudi sinergistično delovanje pesticidov, saj lahko mešanice teh spojin povzročajo večje toksične učinke od tistih, ki jih pričakujemo pri posameznih spojinah. Tako so dokazali sinergistično delovanje ekvimolarne zmesi treh pesticidov, deltametrina, metiokarba in prokloraza, ki skupaj zavirajo delovanje androgenih receptorjev (AR) v pogojih *in vitro* [23].

1.3 JEDRNI RECEPTORJI KOT TARČE KPHM

Jedrni receptorji obsegajo družino znotrajceličnih transkripcijskih dejavnikov, ki neposredno uravnavajo izražanje genov (Preglednica I). Jedrni receptorji preko interakcij z majhnimi lipofilnimi molekulami (ligandi), vključno s steroidnimi in ščitničnimi hormoni, retinoidi ter vitaminom D, posredujejo celično rast, diferenciacijo, metabolizem, razmnoževanje in somatsko morfogenezo. Njihova primarna funkcija je, da delujejo po vezavi liganda kot transkripcijski dejavniki in s tem omogočijo celični odziv na endogene in/ali eksogene snovi (Preglednica II). Raziskave receptorjev in njihovih agonistov/antagonistov so pomembne pri odkrivanju novih učinkovin [24].

Preglednica I: Klasifikacija jedrnih receptorjev [25].

Skupina 1: Homodimeri- receptorji steroidnih hormonov

- Glukokortikoidni receptor
- Mineralokortikoidni receptor
- Androgeni receptor
- Estrogenski receptor
- Progesteronski receptor

Skupina 2: RXR heterodimeri

- Konstitutivni androstandionski receptor
- Farnezoidni X receptor
- Jetni X receptor
- Receptor, aktiviran s proliferatorjem peroksisomov
- Pregnanski X receptor /steroidni in ksenobiotični receptor
- Receptor retinoidne kisline
- Ščitnični receptor
- Receptor Vitamina D

Skupina 3: Homodimeri

- Retinoidni X receptor
- COUP-TF – (Transkripcijski faktor COUP)
- Hepatocitni jedrni faktor 4

Skupina 4: Monomeri

- NurRE

Skupina 5: Receptorji brez DNK – vezoče regije

- Majhne heterodimerne partnerje (jedrne receptorje podružine 0, skupine B, člana 2 (ali NR0B2))

Preglednica II: Podružina jedrnih receptorjev, ki temelji na različnih vrstah ligandov [25].

<u>Endokrini receptorji.</u>	<u>Posvojeni receptorji sirote*.</u>	<u>Receptorji sirote.</u>
AR Androgeni	RAR (Vse-trans-RA)	COUP-TF
ER Estrogenski	RXR (9-Cis-RA)	GCNF (Jedrni dejavnik zarodnih celic)
GR Glukokortikoidni	VDR (Vitamin D ₃)	NOR1 (Nevronski receptor sirot 1)

(Nadaljevanje Preglednice II):

Endokrini receptorji.	Posvojeni receptorji sirote*.	Receptorji sirote.
MR Mineralokortikoidni	CAR (Androstan)	NURR1 (Beljakovina, ki vpliva na vnetni odziv)
PR Progesteronski	PXR (PCN)	NUR77 (Živčni rastni dejavnik IB)
	SXR (Rifampicin)	PNR (Jedrni receptor fotoreceptorskih celic)
	ERR (Dietilstilbestron)	Rev-erb α in β
	FXR (Žolčne kisline)	TLX (Homolog tailless)
	HNF4 (Maščobne kisline)	TR2,4 (Testikularni receptor)
	LXR (Oksisterol)	
	PPAR α (Maščobne kisline)	
	PPAR γ (15d-PGJ2)	
	PPAR δ (β) (cPG1)	
	ROR (Holesterol/melatonin)	
	SF-1 (Fosfolipidi)	

*Posvojeni receptorji sirote – receptorji, ki jim je že bil določen ligand.

Jedrni receptorji delijo skupno strukturno organizacijo, ki jo podajamo v nadaljevanju.

N-terminalno območje (domena A / B) je zelo variabilno in najmanj ohranjeno. Vsebuje transaktivacijsko področje AF-1 in nekaj avtonomnih transaktivacijskih domen AD [26]. Področje AF-1 je neodvisno od liganda. Poveže se z domeno za vezavo liganda LBD in s tem omogoča transkripcijo tarčnih genov [27]. Dolžine domen A / B so različne, in sicer lahko manjše od 50 ali večje od 500 aminokislin. 3D struktura omenjenih domen še ni znana. Domena A / B izkazuje promotorsko in celično specifično aktivnost. Verjetno prispeva k specifičnemu delovanju receptorskih izooblik in vstopa v interakcijo z dejavniki, značilnimi za določen tip celice [26].

Najbolj ohranjena regija je domena, ki veže DNA ali domena C (v nadaljevanju: DBD). Vsebuje območje, imenovano P-box, ki je odgovorno za specifično vezavo na DNA in območje D-box, ki je vključeno pri dimerizaciji. Dimeri so lahko homo- ali heterodimeri. DBD vsebuje tudi COOH terminalni del in dve α -vijačnici [28]. 3D strukturo DBD so določili za veliko jedrnih receptorjev in vsebuje 2 motiva cinkovih prstov. Vsak omenjen motiv je sestavljen iz štirih cisteinov, keliranih s po enim cinkovim ionom (Zn^{2+}).

Med DBD in ligand-vežočo domeno (v nadaljevanju: LBD) se nahaja manj ohranjena domena D, ki se obnaša kot gibljivo področje med domenama C in E [26,29].

Največja domena je zmerno ohranjena domena LBD ali domena E. Njena sekundarna struktura je sestavljena iz 12 vijačnic in je bolj ohranjena kot njena primarna struktura. Njeno 3D strukturo so določili za več jedrnih receptorjev. Na LBD se nahaja od liganda odvisni aktivacijski del AF-2, ki ima med drugim tudi transaktivacijsko funkcijo. Domena E je odgovorna za številne funkcije, ki jih inducirajo ligandi.

Jedrni receptorji lahko vsebujejo ali pa tudi ne vsebujejo domene F, ki se nahajajo na C-terminalnem koncu domen E. Zaporedje domene F je zelo variabilno, njegova struktura in funkcija pa nista znani [26].

Jedrni receptorji regulirajo transkripcijo z vezavo na hormonsko odzivne elemente (v nadaljevanju: HRE). Ti predstavljajo specifična zaporedja DNA v tarčnih genih. Steroidni receptorji se na HRE vežejo skoraj vedno kot homodimeri. Nekaj nesteroidnih receptorjev pa se nanje veže tudi v obliki homodimerov, vendar večina prednostno kot heterodimeri.

Eksperimentalni dokazi podpirajo obstoj koaktivatorjev ali dejavnikov transkripcijskega posredovanja (TIF). Te molekule posredujejo interakcije med transkripcijskimi dejavniki in transkripcijskim sistemom. Nasprotno pa korepresorji lahko vežejo transkripcijske aktivatorje in zavirajo nastajanja transkripcijsko aktivnih kompleksov [28]. V nadaljevanju bomo podrobneje opisali strukture in mehanizme prenosa signalov najpomembnejših jedrnih receptorjev, ki jih lahko modulirajo tudi številni hormonski motilci.

1.3.1 Androgeni receptor

Androgeni receptor (AR) je član naddružine jedrnih receptorjev, ki je sestavljena iz več kot 100 članov. Vezava specifičnih ligandov, androgenov (najpomembnejša endogena androgena sta tetstosteron in dihidrotestosteron) sproži konformacijske spremembe AR, ki omogočajo njegovo translokacijo v jedro, kjer se veže na hormonsko odzivni element. Izražanje genov, ki ga regulira AR je odgovorno za spolno diferenciacijo ter spremembe v puberteti pri moških. Androgeni receptorji so v glavnem izraženi v androgenih tarčnih tkivih, kot so: prostata, skeletne mišice, jetra in centralni živčni sistem (CŽS). Največ jih je v prostati, nadledvični žlezi in obmodku.

Gen AR je dolg več kot 90 Kbp in kodira protein, ki je sestavljen iz 919 aminokislin in ima tri glavne funkcionalne domene. Prosti AR se nahaja v citoplazmi in je povezan s proteini toplotnega šoka (HSP - Heat-Shock Proteins), ki omogočajo ustrezno konformacijo receptorja za vezavo liganda in delujejo kot korepresorji. Po vezavi agonista se sproži vrsta procesov zaradi konformacijskih sprememb AR: disociacija proteinov toplotnega šoka, dimerizacija sproščenega AR, njegova fosforilacija in prenos v jedro celice, kjer se veže na specifično odzivni element ARE. Ta je sestavljen iz določenega zaporedja nukleotidov, ki je namenjeno vezavi dimernega kompleksa AR-androgen [27].

Nenormalnosti v signalizaciji po vezavi androgena na AR zmotijo normalni reproduktivni razvoj in pojasnijo številna bolezenska stanja, kot so sindrom neobčutljivosti za androgene, rak prostate in spinalna bulbarna mišična atrofija [30]. Moška spolna diferenciacija je povsem odvisna od androgenov in zato zelo občutljiva na androgene motilce. Poskusi na živalih in epidemiološke raziskave povezujejo androgene motilce z zmanjšanim številom

spermijev, povečano neplodnostjo, rakom mod in prostate, itd. Z različnimi metodami *in vitro* in *in silico* so potrdili androgeno delovanje precejšnjega števila kemikalij, med katerimi so tudi organoklorovi pesticidi, industrijske kemikalije in mehčala. Večina teh sintetičnih molekul deluje kot antagonisti AR [31].

1.3.2 Estrogenski receptor

Estrogenski receptor (ER) je od liganda odvisen transkripcijski dejavnik, ki je del naddružine jedrnih receptorjev. Za njegovo aktivnost na HRE je potrebna dimerizacija dveh, z ligandom aktiviranih, ER. Obstajata dva podtipa ER, in sicer ER α in ER β , ki ju v glavnem regulira endogeni estrogen estradiol (E2). Modulacija ER obsega razvoj in uravnavanje reproduktivnega ter kardiovaskularnega sistema, vpletenost v remodelacijo kosti ter kontrolo kognitivne funkcije. Prekomerna aktivnost ER je povezana z razvojem in širjenjem nekaterih rakov, npr. dojke in materničnega vratu [32].

Naravni ligand za ER je steroidni hormon 17 β -estradiol, ki se z visoko afiniteto veže nanje in povzroči povečano transkripcijo genov, katerih del so na estrogen-odzivni elementi (ERE - Estrogen Response Element). ER lahko delujejo v obliki homodimerov (ER α -ER α , ER β -ER β) ali heterodimerov (ER α -ER β). ER α so izraženi v dojkah, endometriju, jajčnikih in tkivih hipotalamusa, medtem ko se ER β nahaja v možganih, kosteh, endoteliju, srcu, črevesju, ledvicah, pljučih in tkivih prostate [33].

Estrogenski KPHM lahko spremenijo genomsko in negenomsko aktivnost ER preko neposrednih interakcij, posredno pa preko drugih transkripcijskih dejavnikov, kot je npr. arilni ogljikovodikov receptor Arh (Aryl hydrocarbon receptor) ali z modulacijo metabolnih encimov, ki so ključni za normalno sintezo in metabolizem estrogenov. KPHM, ki se vežejo na ER, so: fitoestrogeni, bisfenoli, organokloridni pesticidi, itd. Lahko imajo tkivno selektivno agonistično ali antagonistično delovanje, ki je zelo podobno delovanju selektivnih modulatorjev estrogenskih receptorjev (SERM), namenjenih blaženju menopavzalnih težav [34].

1.3.3 Glukokortikoidni receptor (GR)

Glukokortikoidni receptor (GR) je prav tako član naddružine jedrnih receptorjev. Aktivirajo ga glukokortikoidi (endogeni: kortizol, kortikosteron). Izražen je povsod in ima različne učinke na fiziološke procese, ki vključujejo endokrino homeostazo ter regulacijo metabolizma, razvoj, stres in imunski odziv.

Gen NR3C1, ki se nahaja na kromosomu 5q31-32, kodira človeški GR. Receptor je zgrajen iz 777 aminokislin. Za njegovo optimalno aktivacijo je zelo pomembna reakcija med domeno AF-1 in koregulacijskimi proteini, mehanizem te reakcije pa še ni znan. Področje DBD GR α se nahaja med aminokislinami 420 in 480 in vsebuje dva motiva cinkovega prsta, preko katerih se GR α veže na glukokortikoid-odzivne elemente (GREs – Glucocorticoid-Responsive Elements) [33].

Receptorski izoobliki GR α in GR β sta homologni in se razlikujeta v karboksilnih koncih. GR α , ki velja za klasični GR, se veže z glukokortikoidi in se premesti v celično jedro, kjer rekrutira koregulatorje za izvedbo transkripcijskih aktivnosti. GR β je naravni dominantni inhibitor GR α in se nahaja v celičnem jedru. V odsotnosti liganda je GR α prisoten v citoplazmi kot del multiproteinskega kompleksa, sestavljenega iz polipeptidnega receptorja, dveh molekul proteinov toplotnega šoka ter več drugih proteinov. Ob vezavi liganda se GR α loči od kompleksa in dimerizira ter se šrestavi v jedro celice, kjer se veže na GRE ter s tem modulira transkripcijsko dejavnost genov, odzivnih na glukokortikoide [35,36]. Vezava glukokortikoidov na GR stimulira transkripcijo preko vezave na GRE (transaktivacija) ali pa se glukokortikoidi vežejo na druge transkripcijske dejavnike, kar omogoča represijo izražanja. Z izbiro liganda tako lahko vplivamo na aktivacijo določenih tarčnih genov [36,37,38].

Eksogene kemikalije lahko povzročijo motnje v delovanju kortikosteroidnih hormonov na več načinov [39]. Menijo, da okoljski onesneževalci, ki delujejo kot KPHM, lahko motijo hormonske osi, ki uravnavajo izrabo maščobnih mas in energije in s tem povečajo nabiranje telesne maščobe ter motijo energetske homeostazo. Glukokortikoidi igrajo osrednjo vlogo v homeostazi energije in zato so motnje v njihovi signalizaciji potencialni mehanizmi zaradi okolja pridobljenih metabolnih motenj [40].

1.3.4 Receptorji ščitničnih hormonov

Vsi receptorji ščitničnih hormonov (TR) imajo podobno organizacijo strukturnih domen kot ostali jedrni receptorji [41]. TR se lahko veže na ščitnični hormon odzivni element TRE (Thyroid Hormone Responsive Element) v tarčnih genih, in sicer kot homodimer, monomer ali heterodimer skupaj z jedrnim receptorjem RXR [33].

Po današnjih razlagah ima kompleks TR/RXR dvojno funkcijo, in sicer zatiranje izražanja gena v odsotnosti T₃ in njegovo aktivacijo, ko je T₃ prisoten. Transkripcijska represija in aktivacija delujeta preko kompleksa multikomponentnih kofaktorjev. V odsotnosti

ščitničnega hormona je TR vezan na korepresor. Izkazalo se je, da mnogi kompleksi korepresorjev vsebujejo histonsko deacetilazo (HDAC). Transkripcijska represija s heterodimerom TR/RXR v odsotnosti liganda je lahko torej delno posredovana preko rekrutacije encima HDAC, ki vpliva na bolj ali manj tesno navitje histonov okoli DNA. Vezava T_3 na TR povzroči odstranitev korepresorjev iz receptorskega kompleksa in sočasno rekrutacijo koaktivatorjev [42].

LBD igra zelo pomembno vlogo pri transaktivaciji, dimerizaciji in bazalni represiji TR. Ligand se nahaja globoko v hidrofobnem žepu LBD. Tvorijo ga prekinjeni odseki, ki obsegajo skoraj celotno LBD. Hidrofobna površina vijačnice 12 C-terminalne domene je del ligand-vezoče votline. Po vezavi liganda je zelo verjetno, da omenjena vijačnica spremeni konformacijo, in sicer iz bolj odprte v bolj zaprto. LBD je vključen tudi v druge pomembne dejavnosti receptorjev. Dokazali so, da prekinjeni odseki po celem LBD tvorijo hidrofobne vmesnike za homo- in heterodimerizacijo TR. V LBD se na vijačnici 12 nahaja tudi domena aktivacijske funkcije AF-2. Ta sekvenca je pomembna za od liganda odvisno transkripcijsko aktivacijo z drugimi jedrnimi hormonskimi receptorji. S študijami o steroidnih hormonskih receptorjih in TR so ugotovili, da je domena AF-2 pomembna pri interakcijah s koaktivatorji, kot so SRC-1 (koaktivatorji steroidnih receptorjev-1) in z njimi povezani družinski člani.

Giblivo področje med DBD in LBD vsebuje aminokislinsko zaporedje, ki je povezano z jedrno lokalizacijo. TR se verjetno prestavijo v jedro kmalu po sintezi in tam se lahko vežejo na DNK celo v odsotnosti liganda. Za razliko od nekaterih receptorjev steroidnih hormonov se TR ne povezujejo s citoplazemskimi proteini toplotnega šoka [41].

Ščitnična hormona trijodotironin (T_3) in tiroksin (T_4) se vežeta na in aktivirata jedrna receptorja $TR\alpha$ in $TR\beta$ [43].

Ugotovili so, da okoljske kemikalije, kot so npr. PCB, lahko blokirajo vezavna mesta za serumske transportne proteine T_4 in s tem povzročajo hitrejše izločanje hormona ter s tem zmanjšanje dostopnosti do tkiv. Neposredne povezave med rakom ščitnice in določenimi KPHM pri ljudeh še niso uspeli potrditi, dokazali pa so, da KPHM lahko vplivajo na hipotalamusno-hipofizno-ščitnično os. Razumevanje osnovnih mehanizmov interakcij med posameznimi hormonskimi sistemi je nujno zato, da lahko razumemo karcinogenezo ščitnice pri ljudeh [43].

Spojine se vežejo tudi na druge jedrne receptorje, za katere je več podatkov v Prilogi 6.

1.4 MEHANIZMI DELOVANJA KPHM TER NJIHOVE POSLEDICE

Osnova motenj endokrinega sistema še ni povsem znana, vendar znanje o mehanizmi delovanja KPHM napreduje. Načeloma so KPHM najprej povezovali le z neposrednim moduliranjem steroidnih receptorjev, danes pa vemo, da so njihove tarče zelo različne, in sicer: nejedrni steroidni in ostali nesteroidni receptorji, še posebno receptorji sirote. Prav tako KPHM vplivajo tudi na encimske poti, povezane z metabolizmom steroidov. Te snovi imajo širok obseg delovanja, pri tem je treba upoštevati, da smo jim lahko izpostavljeni tudi v različnih kombinacijah hkrati. Ugotovili so, da večina KPHM posnema ali moti normalno delovanje endokrinih hormonov (estrogenov, androgenov ter ščitničnih, hipotalamusnih in hipofiznih hormonov). Danes največ pozornosti namenjajo kemikalijam, ki oponašajo ali zavirajo delovanja estrogenskih, androgenih in ščitničnih hormonov [44].

Pri vrednotenju varnosti uporabe spojin, uvrščenih med KPHM, moramo upoštevati prisotnost učinkov pri zelo majhnih odmerkih ter nemonotonost krivulje odmerka-odziva. V letu 2012 so v dveh pomembnih publikacijah predstavili podatke o prisotnosti teh učinkov in nemonotonosti krivulj odmerka-odziva iz človeških in živalskih študij KPHM, v katerih so opazovali nelinearne odzive na različnih ravneh biološke kompleksnosti. Ponavadi nismo izpostavljeni samo eni spojini, ki ima možen endokrini disruptivni učinek, temveč mešanici večjih, kar se lahko odraža v njihovem sinergističnem učinku. Ugotovili so, da na osnovi učinkov, opaženih pri visokih odmerkih KPHM (industrijske kemikalije, plastifikatorji, pesticidi, fitoestrogeni, konzervansi, površinsko aktivne snovi, itd.) ne moremo napovedati učinkov, ki bi nastali pri nizkih odmerkih [45]. Kemikalije, motilke endokrinega sistema, so heterogena skupina ksenobiotikov, ki lahko posnemajo naravne hormone, zavirajo delovanje hormonov ali spreminjajo tako biosintezo kot katabolizem. Izpostavljenost okoljskim onesnaževalcem *in utero* je bila povezana s povečano incidenco reproduktivnih deformacij organov, npr: hipospadijo in kriptorhizmom ter z rakom na modih pri ljudeh ter v nekaterih primerih z zmanjšanjem števila spermijev.

Trenutno obstaja povečano tveganje zaradi prenatalne izpostavljenosti KPHM iz hrane ali sintetičnim kemikalijam. Čas in trajanje izpostavljenosti ter odmerka KPHM določa kaskado potencialnih bioloških odzivov in resnost morebitnih poškodb, ki lahko nastanejo med razvojem ploda. Domnevajo, da je občutljivost na izpostavljenost KPHM odvisna od faze razvoja organizma. V enakem odmerku taka snov postnatalno morda sploh ne bi imela vpliva, v razvijajočem se plodu pa lahko povzroča deformacije [46].

Neposredna vezava na jedrne hormonske receptorje lahko vodi bodisi v njihovo aktivacijo ali pa antagonizem. KPHM lahko vplivajo na receptorje tudi preko posrednih mehanizmov, in sicer z modulacijo izražanja koaktivatorja, spremembo hitrosti od proteasoma odvisne degradacije jedrnega receptorja, spremembami v metilacije DNA in hormonske preobčutljivosti. Spreminjanje funkcije in signalizacije na jedrnem receptorju lahko povzroči spremembe pri preoblikovanju kromatina v tarčnih genih. Ob povečani ravni ali aktivnosti jedrnega receptorja pričakujemo, da se bo povečalo tudi preoblikovanje kromatina v tarčnih genih. Velja pa tudi obratno. KPHM tako vplivajo na ekspresijo genov tudi preko epigenetskih mehanizmov [10].

Kako okoljski dejavniki, vključno s kemikalijami, izzovejo epigenetske spremembe genov, še ni povsem jasno. Obstajajo namreč številna neodgovorjena vprašanja, kot so: kako je uravnavana metilacija specifičnega mesta CpG v DNA; kako se doseže aktivna demetilacija DNA in kako različni epigenetski mehanizmi (metilacija DNA, histonska modifikacija in mRNA) vplivajo drug na drugega. Možnost je, da KPHM vplivajo na epigenome lokalno in globalno [47].

Ljudje smo preko hrane izpostavljeni precejšnjim količinam KPHM, kar bi lahko predstavljalo zdravstveni problem. Eden od glavnih težav pri tem je takoimenovani "koktajl" učinek, t.j. aditivni učinek različnih KPHM, prisotnih v nizkih količinah, ki lahko reagirajo z istimi tarčami, npr. jedrnimi receptorji. Dnevni odmerek KPHM ni edini zaskrbljujoči parameter, saj se veliko tovrstnih snovi kopiči v lipidnih predelih tkiv organizma in tako obremenjuje telo. Obremenitev telesa lahko povzroči več onesneževalcev različnega porekla, npr. dioksini, poliklorirani bifenili, klorirani pesticidi in njihovi metaboliti, bromirani zaviralci gorenja, itd. Nekatere spojine se lahko kopičijo tudi v prehranjevalnih verigah, npr. organokositrove spojine, ki se lahko nakopičijo v morskih sadežih, kar še dodatno povečuje skupno breme KPHM [48].

1.5 Fitofarmaceutska sredstva in biocidni proizvodi

Pesticidi so zakonsko urejeni tako za kmetijsko kot tudi nekmetijsko uporabo, in sicer z Zakonom o fitofarmaceutskih sredstvih in Zakonom o kemikalijah, ki ureja biocidna sredstva [49].

1.5.1 Fitofarmaceutska sredstva

Za področje fitofarmaceutskih sredstev je v Republiki Sloveniji pristojna Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin - Sektor za fitofarmaceutska sredstva. Definicija fitofarmaceutskih sredstev, ki jo navaja, se glasi:

"Fitofarmaceutska sredstva so pripravki, ki se v kmetijstvu uporabljajo za varstvo rastlin in pridelkov pred povzročitelji bolezni in pred plevelom" [50].

Fitofarmaceutska sredstva (v nadaljevanju besedila FFS) varujejo kmetijske pridelke tako, da odstranjujejo ali zmanjšujejo prisotnost nezaželenih rastlin (plevelov) in preprečujejo napade škodljivcev ter bolezni. Zagotavljajo ustrezno kakovost kmetijskih pridelkov in zmanjšujejo vloženo delo. Imajo torej bistveno vlogo pri zagotavljanju zanesljivih zalog kmetijskih pridelkov in prehranske varnosti. Prispevajo tudi k zagotavljanju razpoložljivosti cenovno ugodnega sadja in zelenjave ustrezne kakovosti, dostopnih vsem potrošnikom. Kljub številnim koristim pa imajo FFS tudi negativne lastnosti, saj se sproščajo v okolje. Rabi FFS se v kmetijstvu zaradi prisotnosti škodljivih organizmov pri gojenju rastlin ne moremo izogniti. Poseben pomen pri pridelavi na prostem imajo podnebne razmere, ki vplivajo tako na kmetijske pridelke kot tudi na razmere za razvoj škodljivcev in bolezni. Intenzivnost rabe FFS je odvisna od temperature, ki vpliva na hitrost razvoja posameznih vrst škodljivih organizmov. Še pomembnejša je vlažnost podnebja oz. količina padavin, saj večje količine le-teh v rastni dobi omogočajo intenzivnejši razvoj nekaterih patogenih gliv, zato se povečuje uporaba fungicidov [51].

V Sloveniji je bil Zakon o fitofarmaceutskih sredstvih sprejet leta 2001, leta 2012 pa je doživel prenovo. Med FFS se v Evropi proda največ herbicidov, nato fungicidov. V Sloveniji se je raba FFS v zadnjih dvajsetih letih zmanjšala za polovico. Po prodaji so na prvem mestu fungicidi, sledijo jim herbicidi in insekticidi. Pri tem prevladujejo manj nevarna sredstva, na podlagi bakra in žvepla (fungicidi), med herbicidi pa je več kot tretjina FFS derivatov glifosata. Med insekticidi je več kot polovica FFS izdelanih na podlagi mineralnih olj, ki se lahko uporabljajo tudi v ekološkem kmetijstvu [52].

Fitofarmaceutska sredstva obsegajo širok spekter snovi, ki jih lahko uporabljamo zelo specifično za zatiranje določenih neželenih organizmov. Mednje sodijo akaricidi ali snovi za zatiranje pršic; baktericidi, snovi za obvladovanje bakterijskih povzročiteljev; fungicidi, snovi proti glivičnim boleznim; herbicidi, snovi za obvladovanje plevelov; insekticidi, snovi proti škodljivimi insekti; limacidi, snovi za zatiranje polžev; nematicidi, snovi za

obvladovanje rastlinskih parazitskih nematod ter rodenticidi, snovi za zatiranje glodalcev [53].

1.5.2 Biocidni proizvodi

Definicijo biocidnih proizvodov podaja Urad Republike Slovenije za kemikalije:

"Kakršnokoli snov ali zmes v obliki, v kakršni se dobavlja uporabniku, ki je sestavljena iz aktivnih snovi, jih vsebuje ali se uporablja za pridobivanje ene ali več aktivnih snovi in je namenjena uničevanju, odvrčanju ali nevtralizaciji škodljivih organizmov, preprečevanju njihovega delovanja ali za odpravo teh organizmov na katerikoli drug način kot zgolj s fizičnim ali mehanskim delovanjem."

"Kakršnokoli snov ali zmes, ki se pridobi iz snovi ali zmesi, ki same ne spadajo v prvo alineo, in je namenjena uničevanju, odvrčanju ali nevtralizaciji škodljivih organizmov, preprečevanju njihovega delovanja ali za odpravo teh organizmov na katerikoli drug način kot zgolj s fizičnim ali mehanskim delovanjem." [54].

Biocidni proizvodi vključujejo: insekticide (razen tistih, ki se uporabljajo kot fitofarmacevtska sredstva in so regulirane z Uredbo (EU) št. 1107/2009); repelente insektov; dezinficiense; konzervanse za materiale, kot so les, plastika in vlakna ter sredstva za zaščito (ohranitev) prevlek [55]. Podrobnejša razdelitev biocidnih proizvodov po skupine smo vključili v Prilogi 7.

Biocidni proizvodi igrajo pomembno vlogo v vsakdanjem življenju ljudi. Insekticidi in razkužila so zelo pomembna za javno zdravje, saj pomagajo pri nadzoru bolezni, ki se širijo s prenašalci (malarija, mrzlica denga, čikungunja, zika); bolezni, ki se prenašajo s hrano (salmoneloza, listerioza) ter bolnišnično pridobljenih okužb (npr. MRSA). Biocidi se uporabljajo tudi za zaščito različnih materialov, npr. plastike, barv, tekstila, lesa, itd. Omenjene materiale ščitijo pred mikrobi, glivami ali insekti. Biocidni pripravki lahko zaradi svojih intrinzičnih lastnosti predstavljajo tveganje za človeka, živali in okolje. Zato je EU postavila stroga pravila in postopke za zagotovitev visoke ravni varovanja zdravja ljudi, živali in okolja [55].

Uredba o biocidnih proizvodih (EU) 528/2012 zahteva, da pristojni organi odobre vse biocidne proizvode, preden pridejo na trg. Organi lahko odobrijo samo tiste proizvode, ki imajo dokazano učinkovitost in so varni za zdravje ljudi, živali in okolje [56].

2 NAMEN DELA

KPHM in potencialni KPHM so večinoma sintetične spojine, ki se nahajajo v različnih sredstvih, kot so: pesticidi, aditivi, kovine, kontaminanti v hrani ter izdelki za osebno nego. Domnevajo, da so povezani s spremenjeno reproduktivno funkcijo pri moških in ženskah, povečano pogostostjo raka dojk, nenormalnimi vzorci rasti in zamudami v nevrološkem razvoju pri otrocih ter spremembami v delovanju imunskega sistema.

S pospeševanjem pridelave sadja in zelenjave tudi v Sloveniji narašča poraba biocidnih snovi ter fitofarmaceutskih sredstev. Kemikalije v telo vstopajo na različne načine, npr. skozi dihal, kože ali z zaužitjem. Pri tem lahko povzročijo škodljive spremembe.

Namen magistrske naloge je pregledati vse učinkovine, ki jih vsebujejo fitofarmaceutska sredstva in biocidni proizvodi, registrirani v Republiki Sloveniji ter oceniti, kakšna je verjetnost vezave teh spojin na določene jedrne receptorje. Omenjene spojine bomo poiskali v dveh podatkovnih bazah, in sicer v Seznamu registriranih fitofarmaceutskih sredstev Uprave RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, ki je prosto dostopen na spletni strani <http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/> ter v registru biocidnih proizvodov Urada Republike Slovenije za kemikalije Ministrstva RS za zdravje, ki je prosto dostopen na spletni strani http://www.uk.gov.si/si/delovna_podrocja/biocidni_proizvodi/register_biocidnih_proizvodov/ [57, 58].

Za oceno možnosti vezave teh spojin na jedrne receptorje bomo uporabili program Endocrine disruptome, ki je prosto dostopen na spletni strani <http://endocrinedisruptome.ki.si/>.

Na podlagi tako pridobljenih rezultatov bomo poskusili potrditi ali zavrniti naslednji hipotezi:

1. rezultati za spojine iz skupin fitofarmaceutskih sredstev in biocidnih proizvodov, za katere so znani podatki testiranja njihovega delovanja na endokrini sistem *in vitro* in *in vivo*, bodo skladni s tistimi, ki smo jih pridobili s programom Endocrine disruptome;
2. program Endocrine disruptome prepozna disruptivne učinke spojin iz skupin fitofarmaceutskih sredstev in biocidnih proizvodov, ki jih do sedaj še niso dokazali s testiranjem *in vivo* ter *in vitro*.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

KPHM so spojine raznolikih kemijskih struktur, ki motijo delovanja endokrinega sistema in s tem povzročajo različne neželene učinke z vplivi na delovanje jedrnih receptorjev.

Zanimalo nas je, katere spojine iz skupin fitofarmaceutskih sredstev in biocidnih proizvodov, registriranih v Republiki Sloveniji, modulirajo delovanje jedrnih receptorjev in na kakšen način. Spojine smo poiskali v dveh podatkovnih bazah: Seznamu registriranih fitofarmaceutskih sredstev, ki ga nadzira Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin ter iz Registra biocidnih proizvodov, za katerega skrbi Urad Republike Slovenije za kemikalije. Obe podatkovni bazi se redno posodobljata z informacijami o novih izdelkih. Uporabili smo informacije zapisane do 30.09.2015. Seznam registriranih fitofarmaceutskih sredstev se nahaja na spletni strani <http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/>. Register biocidnih proizvodov pa na spletni strani http://www.uk.gov.si/si/delovna_podrocja/biocidni_proizvodi/ [57,58].

Iz seznama fitofarmaceutskih sredstev smo obravnavali 264, iz registra biocidnih proizvodov pa 194 spojin.

Program Endocrine disruptome zaradi znanih in neznanih razlogov ni mogel testirati 52 spojin, 73 pa jih je zato, ker so v obliki stereoizomerov in tautomerov, obravnaval različno. Med delom s podatkovno bazo biocidnih proizvodov smo naleteli na težave, saj so bila imena aktivnih snovi v biocidnih proizvodih nepopolna in tudi napačno zapisana. Prisotnih je bilo veliko tipkarskih napak, za isto spojino pa so bila na različnih mestih uporabljena sistematična (IUPAC nomenklatura), nesistematična (trivialna) in polsistematična/poltrivialna imena, zaradi česar je bilo delo zelo zamudno.

Dobljene rezultate smo primerjali s tistimi, ki smo jih zasledili v dostopni literaturi. Pri tem smo aktivne spojine razdelili v pet skupin, in sicer:

1. spojine, pri katerih smo dobili pozitivne rezultate;
2. spojine, pri katerih smo dobili pozitivne / negativne rezultate, ki so v nasprotju s podatki iz literature;
3. spojine, pri katerih smo dobili negativne rezultate;
4. spojine, ki jih program ni testiral, ter
5. spojine, za katere v literaturi še ni podatkov o njihovi endokrini disrupciji.

Negativni rezultat pomeni, da skoraj ni verjetno, da bi se spojina vezala na jedrni receptor. Tak rezultat smo označili z ničlo (0) (zeleni razred). Pozitivne rezultate smo označili glede predvidene verjetnosti vezave, in sicer s (+) – majhna verjetnost, da se spojina veže na receptor (rumeni razred); s (++) – večja verjetnost, da pride do vezave (oranžni razred) ter s (+++) – zelo visoka verjetnost, da spojina modulira delovanje receptorja (rdeči razred). Spojine, ki jih program ni mogel testirati in smo jih zato tako izločili iz pregledovanja, so bile: spojine anorganskega izvora (soli, hidroksidi), kompleksi, spojine, ki imajo molekulsko maso večjo od 800, izolati gliv, soji virusov, soji bakterij in olja, pri katerih ni jasno navedena aktivna spojina, poliestri, kvarterne amonijeve spojine ter zmesi spojin, pri katerih natančna sestava ni podana. Program iz nepojasnjenih razlogov ni mogel testirati naslednjih spojin: azoksistrobina, propineba, metirama, spirodiklofena, etoksiliranega oktifenola, cirama, dodina, MCPA-DMA in di-C8-10 alkildimetila. Pri testiranju določenih polimerov smo poskusili testirati njihove monomerne enote, pri preiskovanju organskih soli pa večje ione soli, vendar pa smo le pri nekaterih spojinah uspeli dobiti napoved vezave na izbrane receptorje.

Testirali smo tudi različne izomere določenih spojin in pri nekaterih dobili različne rezultate kot za matično spojino. Enantiomeri imajo v akiralnem okolju identične fizikalne in kemične lastnosti. V kiralnem okolju (biološki sistemi) pa ima en enantiomer drugačne farmakološke oz. toksikološke lastnosti, kar nas je še posebej zanimalo [59]. Za vsako kiralno spojino je priporočljivo, da razlikujemo med enantiomerama kot med dvema ločenima spojinama, vendar pa v različnih podatkovnih bazah in člankih aktivne spojine fitofarmaceutskih sredstev in biocidnih proizvodov obravnavajo kot racemate. Nedvomno je treba biti pri teh spojinah previden pri interpretaciji rezultatov, saj so v človeškem telesu nepredvidljive razmere, spojine pa imajo različne lastnosti ADME, pri čemer so njihove interindividualne razlike velike, možna pa je tudi kiralna inverzija.

3.2 METODE

Napredek na področju računalništva in informacijskih tehnologij zagotavlja nova orodja, ki prispevajo k razumevanju toksikoloških mehanizmov. Uporaba računalniških ali metod *in silico* za napovedovanje človeških odzivov po izpostavljenosti toksičnim spojinam je zelo obetavna, a predstavlja tudi izziv, predvsem zato, ker imajo procesi *in vivo* veliko med seboj tesno povezanih delov, ki jih ni mogoče v celoti razumeti [60].

In silico je termin, ki so ga najprej uporabili v bioinformatiki. Predstavlja tehniko, ki preučuje biološke fenomene in predpostavi aktivno strukturo učinkovine s pomočjo računalniške simulacije. Dandanes lahko številne biološke reakcije modeliramo in napovemo s pomočjo algoritma visokega razreda. Prednosti orodij *in silico* so: nizka cena, standardizacija, minimalna oprema, kratkotrajno usposabljanje in hitro izvajanje. Na splošno velja, da orodja *in silico* upoštevajo napredno biometrijo in jasno definirana področja uporabe [61].

Tehnologije *in silico* so kompleksne in medsebojno povezane. Obsegajo simulacije molekulskih struktur spojin in njihovega sidranja ("docking"), matematično modeliranje, bioinformatiko, visoko pretočno zbiranje podatkov in njihovo obdelavo, kartiranje poti ter analizo omrežja [62].

Na področju molekulskega modeliranja je sidranje metoda, ki napoveduje vezavo preferenčne konformacije ene molekule na drugo (tarča), ob predpostavki, da tvorita stabilen kompleks. Znano preferenčno konformacijo lahko uporabimo za napovedovanje afinitete med dvema molekulama, in sicer s pomočjo cenilnih funkcij. Povezava z biološko pomembnimi molekulami, kot so: proteini, aminokislina, ogljikovi hidrati in lipidi, igra osrednjo vlogo pri prenosu signala. Relativna usmeritev obeh medsebojno delujočih partnerjev vpliva na vrsto nastalega signala. Zato je sidranje uporabno za napovedovanje tako jakosti vezave kot tudi vrste signala [63].

3.2.1 Program "Endocrine disruptome"

Endocrine disruptome (ED) je odprtokodni program, namenjen toksikologom in drugim strokovnjakom, za napovedovanje možnih motenj endokrinega sistema, ki ga lahko povzročijo različne spojine. Razvili so ga na Fakulteti za farmacijo in Nacionalnem inštitutu za kemijo v Ljubljani, s ciljem, da bi dobili spletno platformo, ki je dobro validirana in enostavna za uporabo.

Izbrali so 12 različnih človeških jedrnih receptorjev, in sicer: androgeni receptor (AR); estrogenska receptorja α (Er α) in β (Er β); glukokortikoidni receptor (GR); jetni X receptor α (LXR α) in β (LXR β); s peroksisomskim proliferatorjem aktiviran receptor α (PPAR α), β/δ (PPAR β/δ) in γ (PPAR γ); retinoidni X receptor α (RXR α) ter receptorja ščitnice α (TR α) in β (TR β) [64]. Ocenili so antagonistične in agonistične konformacije receptorjev, za katere poznamo kristalne strukture kompleksov s potrjenim agonistom in antagonistom

[65]. Spojine so sidrali v 16 integriranih in dobro validiranih kristalnih strukturah 12 jedrnih receptorjev [64].

Validacijo programa Endocrine disruptome so opravili s pomočjo molekul, ki imajo molekulska masa manjša od 800 [64]. Izjeme so bili ligandi za ščitnične receptorje, kjer niso uporabili te omejitve zaradi visokih molekulskih mas endogenih ligandov trijodotironina (T3) in tiroksina (T4). Preizkušano spojino program avtomatsko ionizira tako, da ustreza stanju pri fiziološki vrednosti pH 7.4 [65]. Vmesnik za ciljne sisteme oz. spletni vmesnik (v nadaljevanju: DoTS) skupaj s 16 validiranimi strukturami tvori prosto dostopno spletno platformo, imenovano Endocrine disruptome [64]. DoTS je napisan v programskem jeziku "Python" in temelji na spletnem okviru "Django". Uporablja OpenBabel, ki omogoča generiranje 3D struktur iz kod SMILES, optimizacijo energije in pravilno ionizacijo spojin *in silico* [65].

Opozorjanje o strukturah v spojinah, ki motijo teste *in vitro* (Pan Assay Interference Compounds – PAINS), je funkcija programa "Phyton" z vstavljenimi predhodno objavljenimi specifikacijami SMARTS (arbitrarna tarčna specifikacija SMILES – Smiles Arbitrary Target Specification) za PAINS [65]. SMARTS je programski jezik, ki omogoča določanje podstruktur z uporabo pravil za enostavne razširitve kod SMILES (Simplified Molecule Input Line Entry System - Poenostavljen enovrstični sistem za vstavljanje molekul) [66]. Koda SMILES predstavlja enovrstični zapis, s katerim jasno predstavljamo topološko strukturo molekul in v kombinaciji z dodatno programsko opremo določimo njeno geometrijo [67]. Poskuse sidranja izvajamo s programom AvtoDock Vina, pri čemer uporabimo isti protokol kot za validacijo [65].

DoTS ne uporabljamo samo za jedrne receptorje, temveč tudi za različne ciljne sisteme in vrste tarč. Strukture tarč in vsi vhodni podatki morajo biti validirani, zato da sistem pravilno deluje. DoTS potrebuje naslednje podatke o strukturi receptorja: podatke iz krivulj ROC (Receiver Operating Characteristics) z dodeljenimi binarnimi razvrščevalci; podatke praga z ocenami ter SE (občutljivost - Sensitivity), SP (specifičnost - Specificity), PPV (pozitivna napovedna vrednost – Positive Predictive Value) ter NPV (negativna napovedna vrednost – Negative Predictive Value) za določeno oceno; imena strukture brez pripon in konfiguracijske datoteke AvtoDock Vina prav tako brez pripon. Površina pod krivuljo AUC (Area Under The Curve) krivulje ROC je podana za vsak receptor posebej in predstavlja oceno točnosti celotnega postopka sidranja. Višja vrednost AUC pomeni boljše delovanje modela. Rezultate validacije so uporabili za izračun mejnih vrednosti. Izsledki

sidranja so barvno kodirani in razvrščeni v 4 barvne razrede. Za pridobitev ustreznih rezultatov sidranja so uporabili prage občutljivosti (v nadaljevanju SE). Razred "rdeč" ustreza vrednosti $SE < 0,25$ in kaže na visoko verjetnost vezave. Obstajata še dva vmesna razreda, "oranžen" ($0,25 < SE < 0,50$) in "rumen" ($0,50 < SE < 0,75$) ter razred "zelen" ($SE > 0,75$), ki ustreza nizki verjetnosti vezave. Program Endocrine disruptome ne upošteva nobenega od farmakokinetičnih parametrov, vključno z bioakumulacijo in metabolizmom. Napoved naredi samo za eno podano strukturo. Validacijo so izvedili z ligandi, ki imajo zelo veliko jakost vezave. Šibki ligandi z mnogo večjo vezavno konstanto niso uvrščeni v rdeči razred, v našem primeru pa so lahko še vedno problematični, še posebej v primeru kronične izpostavljenosti določeni spojini. Poleg sidranja algoritem DoTS izračuna tudi osnovne fizikalno-kemijske lastnosti vhodnih spojin in poskuša uporabnike opozoriti o detekciji PAINS [65].

Uporabniki lahko narišejo strukture s pomočjo orodja "ChemDoodle Sketcher" ali pa v program neposredno vstavijo kode SMILES (Slika 1) [65].

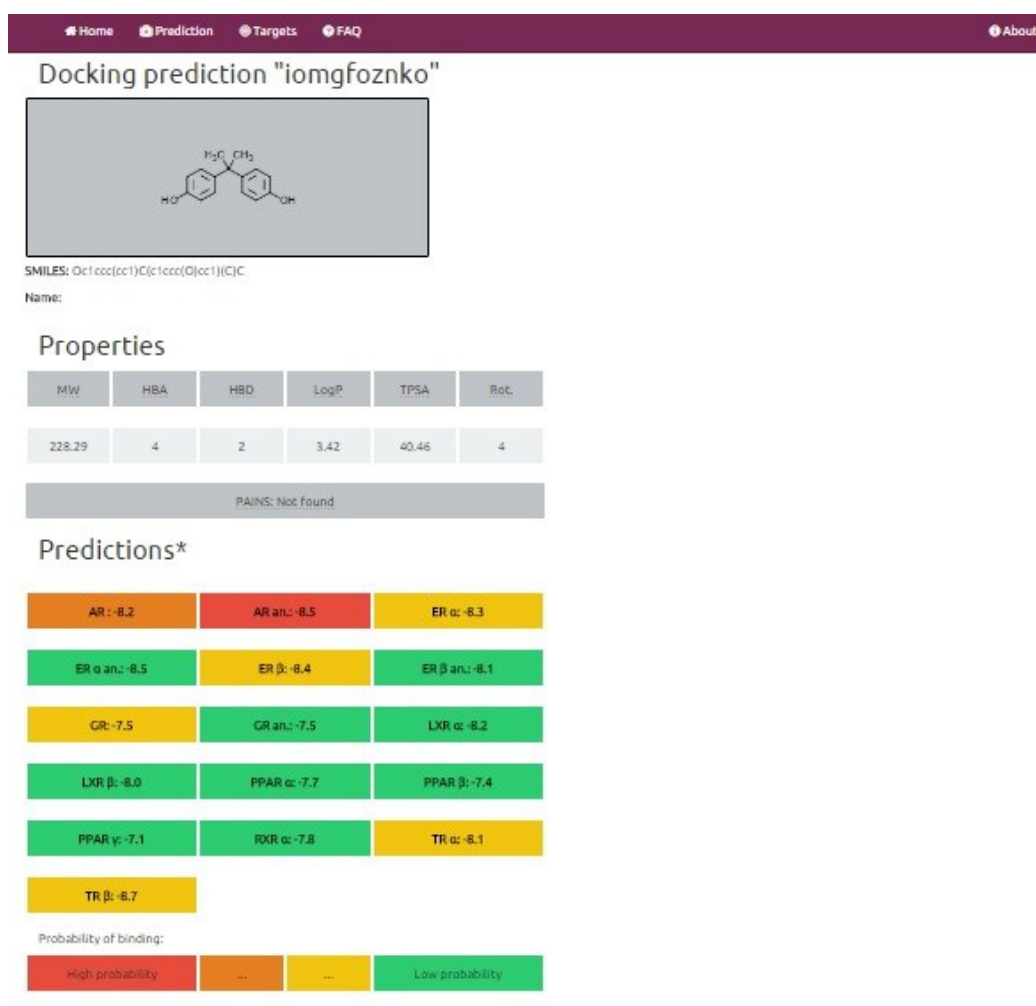


Slika 1: Napovedna stran programa Endocrine disruptome [68].

Ob vnosu strukture spojine sistem takoj preusmeri uporabnika na novo stran, ki je dodeljena za izračun napovedovanja. Sidranje (Slika 2) traja nekaj časa in zato se rezultati ne prikažejo takoj. Stran se samodejno osveži vsakih 30 sekund. Ko se sidranje konča, se

rezultati prikažejo v obliki barvne tabele. Vsaka celica v tej tabeli predstavlja receptorsko strukturo. V celicah se nahajajo tudi številke, ki predstavljajo vezavne energije. Celice so obarvane z rdečo barvo, ki predstavlja veliko verjetnost vezave; oranžno in rumeno barvo, ki predstavljata vmesne vrednosti ter zeleno barvo, ki predstavlja nizko verjetnost vezave. Vsakemu izračunu je namenjen edinstven in naključen naslov URL, ki je znan le uporabniku [65].

Uporabniki lahko zaženejo program lokalno, na svojem računalniku. To je pomembno zlasti za tiste, za katere je pomembna varnost podatkov [65].



Slika 2: Primer prikaza rezultatov sidranja za bisfenol A [69].

3.2.2 Iskanje strukture spojin

Pri iskanju strukture spojin smo uporabili več različnih podatkovnih baz. Vsako spojino smo testirali večkrat (najmanj osemkrat) in izračunali aritmetično sredino rezultatov. Ali

smo pravilno narisali strukturo spojine v napovedni strani programa, smo preverjali s pomočjo informacij o njeni molekularni masi in drugih fizikalno-kemijskih lastnostih (npr. log P). Pri iskanju spojin smo uporabljali njihova mednarodna nelastniška imena in/ali ime IUPAC.

3.2.2.1 Podatkovna baza "ChemSpider"

Podatkovna baza ChemSpider je brezplačna podatkovna zbirka, ki omogoča dostop do več kot 43 milijonov kemijskih struktur, njihovih lastnosti in drugih različnih informacij. Je last Kraljeve kemijske družbe (Royal Society of Chemistry – RSC). ChemSpider temelji na zbranih virih, z dodajanjem dodatnih lastnosti, sorodnih informacij in povezav do originalnih podatkovnih virov. Vključuje in povezuje spojine iz več kot 500 različnih podatkovnih virov [70].

Poleg struktur in imen spojin ChemSpider pri njihovem iskanju ponuja še fizikalne lastnosti, sistematična imena, mednarodne kemijske identifikatorje IUPAC (InChi), citiranje, različna imena in sinonime za spojine, različne spektre, članke, v katerih je spojina omenjena, povezavo do strani Wikipedije, itd.

Spletna stran ChemSpider je prosto dostopna na spletnem naslovu <http://www.chemspider.com/>.

3.2.2.2 Podatkovna zbirka "PubChem"

Podatkovno zbirko PubChem so objavili leta 2004 v okviru Nacionalnega centra za biotehnoško informacijo (NCBI), ki je oddelek Nacionalne medicinske knjižnice v ZDA (U.S. NLM - v nadaljevanju besedila NLM). Ponuja informacije o bioloških aktivnostih malih molekul. Je prosto dostopna na spletni strani <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. PubChem vključuje informacije iz treh različnih podatkovnih baz, in sicer: Pcsubstance, ki ponuja informacije o spojinah; Pccompound, v kateri so informacije o strukturi spojin in PCBioAssay, ki vsebuje informacije o biološki aktivnosti spoji [71,72,73].

Podatkovna baza, ki ponuja informacije o spojinah, vključuje njihove kemične strukture, sinonime, registracijske identifikacije, opise spojine, sorodne URL, navzkrižne vsebinske povezave z drugimi podatkovnimi bazami, 3D strukture proteinov in rezultate biološkega rešetanja [71,72,73].

Podatkovna baza, ki ponuja informacije o strukturah spojin, vsebuje validirane informacije, ki so določene za opis snovi v podatkovni bazi Pcsubstance. Strukture, shranjene v

podatkovni bazi Pccompound, so zbrane in navzkrižno razvrščene po skupinah na osnovi identitete in podobnosti spojin. Na voljo so tudi izračunane lastnosti spojin (npr. log P) in deskriptorji, ki jih lahko uporabimo pri iskanju in filtriranju struktur [71,72,73].

Podatkovna baza PCBioAssay vsebuje predstavitve bioloških aktivnosti kemičnih snovi, ki so opisane v podatkovni bazi Pcsubstance in nudi opise posameznih bioloških poizkusov, opise uporabljenih pogojev, načinov odčitavanja podatkov, itd.[71,72,73].

3.2.2.3 Podatkovna baza o lastnostih pesticidov (PPDB: Pesticide Properties DataBase)

Podatkovna baza o lastnostih pesticidov (v nadaljevanju besedila PPDB) je izčrpna, saj ponuja kemično identiteto, fizikalno-kemijske lastnosti, informacije o vplivu na zdravje ljudi ter podatke o ekotoksikologiji. Razvila jo je raziskovalna enota za kmetijstvo in okolje (AERU) Univerze Hertfordshire v Združenem kraljestvu. Služi za podporo analize tveganj in upravljanja s tveganji. [74,75]. V njej lahko iščemo ime spojine (pesticid, metabolit ali drugo snov), sinonime, številko CAS (enoznačen številčni identifikator kemijskih elementov, spojin, polimerov, bioloških sekvenc, zmesi in zlitin) ter kode SMILES ali InChI [74,75,76]. Lahko uporabljamo več kot eno ključno besedo, tako da vstavimo znak "+" med besede. Za iskanje potrebujemo brskalnik, ki ga podpira programski jezik JavaScript [74,75].

PPDB je prosto dostopna na spletni strani <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/>.

3.2.2.4 Podatkovna baza o interakcijah med pesticidi in tarčami (Pesticide Target Interaction Database (PTID))

Spletna podatkovna baza o interakcijah med pesticidi in tarčami (v nadaljevanju besedila PTID) zagotavlja informacije o pesticidih in njihovih potencialnih tarčah. Izoblikovala jo je raziskovalna skupina prof. Xuhong Qian-a in prof. Honglin Li-ja na Fakulteti za farmacijo Univerze za znanost in tehnologijo v Vzhodni Kitajski [77,78].

Vsebuje podatke za 1300 pesticidov razvrščenih v 22 skupin, vključno z njihovimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi, toksikološkimi in ekotoksikološkimi informacijami, ipd. Potencialne tarče za vsak pesticid so določili s pomočjo podatkov iz literature z uporabo spletnega orodja za podatkovno rudarjenje PloySearch, ki je dostopno na spletni strani <http://wishart.biology.ualberta.ca/polysearch/> [78].

Podatke smo lahko iskali na osnovi imena pesticida, številke CAS, kod InChI ali SMILES, molekulske mase, števila donorjev H-vezi, števila akceptorjev H-vezi, podstrukture, 2D

strukture, 3D strukture, identifikacijske številke PubChem, identifikacijske številke EPA (Agencija za varstvo okolja, ZDA), ipd [77,79].

3.2.2.5 Podatkovna baza toksinov in njihovih tarč (The Toxin and Toxin Target Database (T3DB))

Podatkovna baza toksinov in tarč toksinov (v nadaljevanju besedila T3DB) je edinstven bioinformacijski vir, ki združuje podrobne podatke o toksinih in izčrpne informacije o njihovih tarčah. Trenutno vsebuje podatke o 3.673 toksinih, opisanih z 41.733 sinonimi. Omenjeni toksini so lahko onesnaževalci, pesticidi, zdravila in toksini iz hrane, T3DB pa jih povezuje z 2.087 ustreznimi zapisi o njihovih tarčah [80,81,82].

Vsak zapis toksinov ToxCard (toksinska kartica) vsebuje več kot 90 podatkovnih področij, ki ponujajo informacije, kot so: kemijske lastnosti in deskriptorji, stopnje strupenosti, podatki o molekulskih in celičnih interakcijah ter medicinske informacije. Podatke so pridobili iz različnih virov, ki vključujejo tudi druge podatkovne baze, vladne dokumente, knjige in ostalo znanstveno literaturo [80,81,82].

T3DB zagotavlja informacije o mehanizmih toksičnosti in tarčnih beljakovinah za vsak izbrani toksin. Iščemo lahko tekst, strukture, zaporedja, kode SMILES, identifikacije InChI, identifikacijske številke PubChem in DrugBank ter številke drugih podatkovnih baz, ki so povezane s T3DB. Vključuje tudi napovedi metabolizma toksinov in napovedi interakcij med toksini in njihovimi potencialnimi tarčami ter podatke o splošnem poznavanju toksinov s strani javnosti, kar pomeni, da je ta podatkovna baza primerna za uporabo na različnih področjihin nivojih [80,81,82].

Ta projekt podpirajo kanadski inštituti za zdravstvene raziskave, organizacije Alberta Innovates - Health Solutions in Center za metabolomske inovacije TMIC (The Metabolomics Innovation Centre), ki so na nacionalnem nivoju financirale raziskavo in podpirajo široko paleto vrhunskih študij [80,81,82].

Podatkovna baza je prosto dostopna na spletni strani <http://www.t3db.ca/>

3.2.2.6 Podatkovna baza "ZINC12"

Podatkovna zbirka Zinc¹² je prav tako prostodostopna. Razvili so jo v laboratorijih Irwin in Shoichet Oddelka za farmacevtsko kemijo Kalifornijske univerze v San Franciscu (UCSF). Podatki o spojinah, ki jih ponuja, so komercialno dostopni za virtualno reševanje [83,84].

Spletna stran omogoča iskanje kemijskih struktur, bioloških aktivnosti, fizikalnih lastnosti, prodajalcev, kataloških števil, imen, kod SMILES, števil CAS, itd [83].

Novejša različica ZINC¹⁵ je hitrejša od ZINC¹² in ponuja boljše in popolnejše iskanje podatkov. Dostopna je na spletni strani <http://zinc15.docking.org/>.

3.2.2.7 *Kemijske entitete, ki so biološko zanimive*

Podatkovna zbirka Biološko zanimive kemijske entitete ChEBI (Chemical Entities of Biological Interest) je v bistvu prosto razpoložljiv slovar molekulskih entitet, osredotočen na majhne kemijske molekule, ki so bodisi naravne ali sintetične spojine, katerim so izpostavljeni ljudje in živali [85,86].

ChEBI prikaže naslednje informacije o izbrani spojini: identifikacijsko številko ChEBI, ime spojine, njeno strukturno formulo, ime IUPAC, kode SMILES, ontologijo ChEBI, nelastniško ime, povezave z drugimi podatkovnimi bazami, registracijske številke (npr. CAS, Beilstein-ovo registracijsko številko, ipd), citiranje, idr [85,86].

ChEBI je prosto dostopna na spletni strani <http://www.ebi.ac.uk/chebi/init.do>.

3.2.2.8 *Slovar "ChemIDplus"*

Slovar ChemIDplus vsebuje več kot 400.000 kemikalij in ponuja povezave do podatkovne baze NLM ter drugih baz in virov, vključno z zveznimi, državnimi in mednarodnimi agencijami. ChemIDplus se posodablja dnevno [25]. Zapisi, ki jih ponuja ta podatkovna baza, vključujejo strukture, imena in sinonime, formule, opombe, kode za razvrščanje, registracijske številke, toksikološke/fizikalne/kemične lastnosti ter povezave do drugih virov [87,88]. Prosto je dostopna na spletni strani <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidlite.jsp>.

3.2.2.9 *Podatkovna baza "ChEMBL"*

Podatkovna baza ChEMBL je zbirka, ki vsebuje različne informacije za veliko število bioaktivnih spojin. Kombinira podatke o vezavi (interakcije med spojino in tarčo), funkciji (posredni učinki spojine na poti do tarče, na sistem ali na celotni organizem) in ADMET (farmakokinetični lastnosti spojin, interakcije s ključnimi metabolnimi encimi ali toksični učinki na celice/tkiva) [89].

V njej iščemo spojine preko njihovih imen ali struktur. Spletna stran nam ponuja imena, tekst, kode SMILES, mehanizme delovanja, povezave do drugih strani, lastnosti molekul, napovedi tarč, itd.

ChEMBL je prosto dostopna na spletni strani <https://www.ebi.ac.uk/chembl/> .

3.2.2.10 Portal " ChemDB"

Portal ChemDB vsebuje skoraj 5×10^6 komercialno dostopnih majhnih molekul, ki so pomembne kot sintetični gradniki, sonde v sistemski biologiji in spojine vodnice pri odkrivanju novih učinkovin in drugih uporabnih spojin [90].

Podatki so javno dostopni preko spleta, vključujejo pa eksperimentalno določene fizikalno-kemične lastnosti, kot so na primer 3D strukture spojin, temperature tališč in topnost [90].

Poleg tega podaja tudi: ime spojine IUPAC, kode SMILES in InChi, osnovne kemijske deskriptorje, kot npr. molekulske mase, donorje H-vezi, akceptorje H-vezi, vrednosti log P, število atomov, število vezi, itn.

ChemDB Portal je dostopen na spletni strani <http://cdb.ics.uci.edu/> .

3.2.2.11 Podatkovna baza o biopesticidih (BPDB: Bio-Pesticides Database)

Podatkovna baza o biopesticidih BPDB je obsežna zbirka fizikalno-kemijskih, toksikoloških in ekotoksikoloških lastnosti biopesticidov ter drugih sorodnih podatkov [74].

Tako kot zbirko lastnosti pesticidov PPDB je tudi BPDB razvila raziskovalna enota za kmetijstvo in okolje (AERU) Univerze Hertfordshire v Združenem kraljevstvu. Vsebuje podatke za približno 600 biopesticidov in njihove metabolite. Podaja jih v obliki: identifikacijskih kod, opisov struktur, kemijskih imen in sinonimov, jezikovnih prevodov, klasifikacijskih sistemov, ipd. Pridobimo lahko tudi podatke, ki so značilni za naravne snovi, vključno s taksonomskimi razvrstitvami, viri in podatki o proizvodnji, uporabi ter ciljnih škodljivcih oz. proti kateri bolezni se uporabljajo. Podane so tudi kemične in fizikalne lastnosti, ki lahko vplivajo na okolje in transport biopesticidov; informacije o človeškem zdravju, tveganju, varnostnih informacijah, mejnih vrednostih izpostavljenosti; informacije o komercialnih izdelkih, vključno z blagovnimi znamkami; imenih podjetij, ki uporabljajo ali prodajajo aktivno učinkovino, sorodnih substancah ter informacije o njihovi pripravi in uporabi [74].

Podatkovna zbirka je prosto dostopna na spletni strani: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/bpdb/index.htm> .

3.2.2.12 Podatkovna baza v oblaku (Chemical Cloud Database (ChemCD))

Podatkovna baza v oblaku ChemCD je zelo enostavno orodje za shranjevanje podatkov. Neprekinjeno se posodablja in predstavlja odlično zbirko podatkov, ki vsebuje imena spojin, kode CAS ter imena dobaviteljev in kupcev.

ChemCD vsebuje podatke o 10×10^6 spojin, njihovih strukturah, sinonimih, kodah SMILES itd [91]. Uporaba je hitra in enostavna.

ChemCD je prosto dostopna na spletni strani: <http://www.chemcd.com/> .

3.2.2.13 Spletni vir "Chemicalize.org"

Chemicalize.org je javni spletni vir, ki so ga razvili v projektu ChemAxon in ponuja naslednje informacije o spojinah: elementne analize, imena IUPAC, kode SMILES, strukture, informacije o protonaciji (pKa, izoelektrična točka, itd), vrednosti logP, polarnost, elektronegativnost, izomerne oblike (tautomerija, stereoizomerija), geometrije (2D, 3D), resonance, refraktilnosti, idr. [92].

3.2.2.14 Zbrani računalniški toksikološki viri (ACToR)

Zbrani računalniški toksikološki viri ACToR (Aggregated Computational Toxicology Resource) so spletno skladišče vseh javno dostopnih podatkov o toksičnosti kemikalij, ki se lahko uporablja za iskanje podatkov o morebitnem kemičnem tveganju za zdravje ljudi in varnost okolja. Združuje podatke iz več kot 1.000 različnih virov za več kot 500.000 kemikalij, ki jih lahko iščemo po kemičnih imenih in drugih identifikatorjih.

ACToR omogoča uporabnikom tudi iskanje podatkov v drugih podatkovnih bazah EPA, in sicer: ToxCastDB (1.800 kemikalij iz 700 rešetanj visoke zmogljivosti); ExposureData (podatki o izpostavljenosti ljudi); DSSTox (kemične strukture in pripisi). ACToR nudi podatke o kemični strukturi, fizikalno-kemičnih lastnostih, izsledkih testov *in vitro* ter toksičnosti *in vivo*. Vključuje tudi informacije o proizvodnji industrijskih kemikalij velikega in srednjega volumna, o pesticidih (podatki o aktivnih ali neaktivnih učinkovinah) ter morebitnih onesneževalcih zemlje in pitne vode [93].

3.2.2.15 Podatkovna baza človeškega metaboloma (The Human Metabolome Database (HMDB))

Podatkovna baza človeškega metaboloma HMDB je prosto dostopna spletna podatkovna zbirka, ki vsebuje podrobne informacije o metabolitih majhnih molekul, ki se lahko

nahajajo v človeškem telesu. Namenjena je predvsem uporabi v metabolomiki, klinični kemiji, za iskanje biomarkerjev in za splošno izobraževanje. Oblikovana je tako, da vsebuje ali povezuje tri tipe podatkov: kemične, klinične in molekularno biološke/biokemijske [94].

Vsebuje informacije o 41.993 vodotopnih in lipidotopnih metabolitih ter metabolitih z visokimi in nizkimi koncentracijami. Vsaka metabolna kartica (MetaboCard) vsebuje 110 podatkovnih področij, od katerih 2/3 predstavljajo kemični/klinični, 1/3 pa encimski ali biokemični podatki. Veliko podatkov pa je povezanih tudi preko hiperpovezave z drugimi podatkovnimi bazami (KEGG, PubChem, UniPort, MetaCyc, ChEBI, PDB in GenBank) [94].

HMDB podpira obsežna besedila, zaporedja, kemične strukture in iskanje relacijskih izrazov. Štiri dodatne podatkovne zbirke, DrugBank, T3DB, SMPDB in FooDB, predstavljajo podenote HMDB. Vsaka spojina ima HMDB identifikacijo (HMDB ID), v kateri se nahajajo vse želene informacije. Kadar uporabniki iščejo določeno spojino, lahko narišejo njeno strukturo ali pa vpišejo kode SMILES in tako dobijo ne le iskano, ampak tudi seznam podobnih spojin. Podatkovna zbirka omogoča tudi iskanje različnih zaporedij, spektrov ter iskanje po različnih podpodročjih [94].

HMDB je prosto dostopna na spletni strani <http://www.hmdb.ca/>.

3.2.2.16 Podatkovna baza "SuperTarget"

SuperTarget je podatkovna baza, ki so jo prvotno razvili za zbiranje informacij o interakcijah med učinkovinami in tarčami. Sestavljena je iz treh delov, ki se nanašajo na učinkovine, proteine in stranske učinke. Ločeno poglavje pa je namenjeno posebni podskupini tarč, in sicer citokromomom (CYP) P450. Vse entitete so povezane med seboj preko naslednjih zvez: učinkovina-protein, protein-protein in učinkovina-neželeni učinek. Podatkovna baza vsebuje bogate zapise o virih, različnih identifikacijah, fizikalnih lastnostih, referencah, itd [95].

Podatki o proteinih izvirajo iz podatkovne zbirke UniProt (Universal Protein Resource), prikazani pa so sinonimi in informacije o organizmih, iz katerih so bili izolirani. Prikazane so tudi informacije o interakcijah tarča-tarča in o podobnostih njihovih zaporedj [95].

SuperTarget je prosto dostopna na spletni strani:

http://bioinf-apache.charite.de/supertarget_v2/index.php.

3.2.2.17 Podatkovna baza "SuperToxic"

Podatkovna baza SuperToxic je namenjena farmacevtom, biokemikom, zdravnikom in raziskovalcem, ki delajo na sorodnih področjih. Omogoča dostop do informacij o toksičnih spojinah (imena, sinonimi in strukture) [96].

SuperToxic napoveduje toksičnost spojin, obvešča o potencialnih tarčah v biokemičnih poteh in prikazuje morebitne molekulske vezavne partnerje. Podatkovna baza podaja tudi povezave do dobaviteljev, spojin, itd [96].

Določeno spojino lahko poiščemo preko različnih identifikatorjev (CAS, NCS, SMILES), struktur, fizikalno-kemijskih lastnosti (molekulska masa, število atomov, število prstanov, število vezi, število rotacijskih vez, vrednost LogP, število donorjev H-vezi, število akceptorjev H-vezi ter vrednost toksičnosti) in preko iskalnika podatkovne baze [96].

SuperToxic je prosto dostopna na spletni strani

<http://bioinformatics.charite.de/supertoxic/index.php?site=home> .

3.2.2.18 Podatkovna zbirka o kemičnem raziskovanju pesticidov (EPA – Pesticides Chemical Search)

Podatkovno zbirko o kemičnem raziskovanju pesticidov so pripravili na Agenciji za varstvo okolja, EPA v ZDA. Uporabniku omogoča, da hitro in enostavno najde želeno aktivno učinkovino pesticidov s pomočjo široke palete preprostih ali naprednih možnosti iskanja. Podatkovna baza zagotavlja enotno referenčno točko za enostaven dostop do informacij, ki so bili predhodno objavljene na različnih mestih, vključno s spletnimi stranami znotraj EPA ter na povezavi Regulations.gov [97].

Namenjena je znanstvenikom in splošni javnosti in je dostopna na spletni strani <https://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=CHEMICALSEARCH:1:> .

3.2.3 Primerjava rezultatov pridobljenih *in silico* s podatki iz literature

Literaturo, ki smo jo uporabljali za primerjavo podatkov, so številni znanstveni članki, knjige ter naslednje podatkovne zbirke:

- PPDB (Pesticide Properties DataBase-University of Hertfordshire): <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/si/search.htm> .
- Pub Chem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> .

- Centrala endokrinih motenj TEDX (TEDX List of Potential Endocrine Disruptors): <http://endocrinedisruption.org/endocrine-disruption/tedx-list-of-potential-endocrine-disruptors/chemicalsearch> .
- PAN Pesticides Database: http://www.pesticideinfo.org/Search_Chemicals.jsp .
- T3DB (The Toxin and Toxin Target Database): <http://www.t3db.ca/> .
- Podatkovna baza pesticidov Tajske (Thailand Pesticides database): http://www.thailand.ipm-info.org/pesticides/pesticides_database.htm .
- Podatkovna baza endokrinih motilcev (EDC Data Bank): <http://edcs.unicartagena.edu.co/> .
- VSDB (Veterinary Substances DataBase): <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/vsdb/> .
- Podatkovna baza nevarnih snovi HSDB (Hazardous Substances Data Bank): <https://toxnet.nlm.nih.gov/newtoxnet/hsdb.htm> .
- PTID (Pesticide Target Interaction Database): <http://lilab.ecust.edu.cn/ptid/> .
- <http://www.pan-uk.org/pestnews/Actives/endocrin.htm> .
- PAN Evropa - IMPACT ASSESSMENT ANNEX Ia The number of endocrine disrupting pesticides that may cause damage to human health and should be regulated (1107/2009, Annex II,3.6.51): <http://www.pan-europe.info/sites/pan-europe.info/files/public/resources/reports/pane-2015-pan-europe-impact-assessment-of-the-endocrine-disrupting-pesticides.pdf> .
- PAN Nemčije - Biocidni endokrini motilci (Pan Germany: Endocrine Disrupting biocides):http://www.pan-germany.org/download/biocides/ED-Biocides_backgroundpaper_PAN-Germany_F.pdf.

3.2.4 Vrednotenje rezultatov pridobljenih s pomočjo programa Endocrine disruptome (Cooper-jeva statistika)

Napovednost programa Endocrine disruptome (ED) smo ocenili s pomočjo t.i. Cooper-jeve statistike, pri čemer smo primerjali naše rezultate *in silico* s tistimi iz literature.

Cooper-jeva statistika ocenjuje uspešnost modela klasifikacije na podlagi:

- njegove sposobnosti zaznavanja aktivne spojine (občutljivost),
- njegove sposobnosti zaznavanja neaktivne spojine (specifičnost),
- njegove sposobnosti pravilnega klasificiranja obeh razredov,
- napačne pozitivne in napačne negativne stopnje, ki ju lahko izračunamo s pomočjo specifičnosti in občutljivosti.

Pozitivna "napovedna vrednost" je verjetnost, da je klasificirana aktivna spojina zares aktivna, negativna pa verjetnost, da je klasificirana neaktivna spojina zares neučinkovita [98].

Uspešnost modela lahko predstavimo v obliki preglednice (Preglednica III).

Preglednica III: Predstavitev uspešnosti modela [99].

		Napovedni razred.		
		Aktivne spojine	Neaktivne spojine	Marginalni seštevki
Znani razred	Aktivne spojine	A	B	a+b
	Neaktivne spojine	C	D	c+d
Marginalni seštevki		a+c	b+d	a+b+c+d

Ocenjevanje učinkovitosti modela s pomočjo Cooper-jeve statistike pa je prikazano v Preglednici IV.

Preglednica IV: Definicija in izračun parametrov za oceno uspešnosti modela [99].

	Definicija - razmerje (ali odstotek):	Formula:
Občutljivost	aktivnih kemikalij (snovi, ki eksperimentalno dajejo pozitivne rezultate in so v literaturi napovedane kot aktivne);	$a/(a+b)$
Specifičnost	neaktivnih kemikalij (snovi, ki eksperimentalno dajejo negativne rezultate in so v literaturi napovedane kot neaktivne);	$d/(c+d)$
Točnost	kemikalij, ki so pravilno klasificirane;	$(a+d)/(a+b+c+d)$
Pozitivna napovedna vrednost	napovedanih aktivnih kemikalij, ki eksperimentalno dajejo pozitivne rezultate;	$a/(a+c)$
Negativna napovedna vrednost	napovedanih neaktivnih kemikalij, ki eksperimentalno dajejo negativne rezultate;	$d/(b+d)$
Lažno pozitivna vrednost	neaktivnih kemikalij, ki so lažno napovedane kot aktivne;	$c/(c+d)=1-$ specifičnost
Lažno negativna vrednost	aktivnih kemikalij, ki so lažno napovedane kot neaktivne.	$b/(a+b)=1-$ občutljivost

Pri računanju napovednosti programa smo uporabili podatke iz študij *in vitro* in *in vivo*. Podatkov iz drugih testiranj *in silico* (podatki iz PubChem-a) ter tistih iz podatkovnih baz PTID in T3DB nismo uporabili, saj njihova točnost ni potrjena.

Za izračun smo uporabili spojine navedene v Preglednici XXXII in tiste iz Preglednice XXXIII [Prilogi 8 in 9].

Nismo pa upoštevali spojin, za katere v literaturi še ni podatkov o njihovi endokrini disrupciji in tistih, ki jih program ni mogel testirati zaradi različnih razlogov (omejitve glede strukture spojin, ki jih ima program ED: npr. soli, hidroksidi).

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

S programom Endocrine disruptome smo najprej testirali vse spojine iz seznama FFS nato pa še tiste iz registra biocidnih proizvodov. Rezultate, ki so predstavljeni v Prilogah 8 in 9, smo razvrstili v preglednico in jih barvno označili. S sivo barvo smo označili spojine, ki jih program ni testiral zaradi različnih razlogov (soli, hidroksidi, zmesi, neznani vzroki). Z rožnato barvo, smo označili spojine, za katere smo dobili visoko verjetnost vezave ((++) in (+++)). V Preglednici XXXII (Priloga 8) so predstavljeni končni rezultati preskušanja spojin z ED, ki predstavljajo aritmetično sredino posameznih izidov za vsako spojino. Vse spojine smo posamično testirali več kot osemkrat.

Glede na rezultate smo nato spojine razdelili v pet skupin, in sicer:

1. spojine, za katere smo dobili negativne rezultate;
2. spojine, ki so dale negativne / pozitivne rezultate, ki so v nasprotju s podatki iz literature;
3. spojine, za katere smo dobili pozitivne rezultate na enem ali več jedrnih receptorjih;
4. spojine, ki jih program ni testiral, ter
5. spojine, za katere v literaturi še ni podatkov o njihovem endokrinem disrupcijskem delovanju.

Na osnovi česa smo se odločili uvrstiti spojine v te skupine in kaj pomenijo pozitivni in negativni rezultati, smo natančneje opisali v poglavju Materiali in metode.

Osredotočili smo se na spojine, za katere smo dobili pozitivne rezultate, in sicer (++) in (+++), oziroma za katere lahko pričakujemo, glede na napovednost programa, veliko verjetnost vezave (razvrstitev v oranžni in rdeči razred).

4.1 SPOJINE, ZA KATERE SMO DOBILI NEGATIVNE REZULTATE

Spojine označene s črno barvo v Preglednici V so tiste, katerih rezultati *in silico* glede vezave na preiskovane jedrne receptorje se ujemajo s tistimi iz literature. Od teh le vodikov peroksid pripada skupini biocidnih proizvodov, ostale pa sodijo med fitofarmacevtska sredstva. Z vijolično barvo smo označili spojine, ki so dale negativne rezultate (ni napovedi vezave), vendar pa so ti v nasprotju s podatki iz literature. Vse te so fitofarmacevtska sredstva. Z zeleno barvo označene spojine so tiste, za katere v literaturi ne obstajajo podatki o njihovih endokrinih disrupcijskih učinkih. Osem od teh (metaldehid,

dazomet, acetamiprid, (E)-8-dodecen-1-il acetat, Z-8-dodecil acetat, Z-8-dodecen-1-ol, E,E 8,10-dodekadien-1-ol (kodlemon) in milbemektin) so spojine s seznama fitofarmacevtskih sredstev. Preostalih 9 spojin pa sodi v skupino biocidnih proizvodov. Med vsemi testiranimi 264 fitofarmacevtskimi sredstvi in 194 biocidnimi proizvodi je bilo 32 spojin, za katere smo dobili negativne rezultate (ni napovedi vezave), pri čemer je večino teh fitofarmacevtskih sredstev.

Preglednica V: Spojine, za katere smo dobili negativne rezultate (ED-endokrino delovanje).

Spojine, katerih rezultati se ujemajo s tistimi iz literature.	Spojine, za katere smo dobili negativne rezultate, ki so v nasprotju s podatki iz literature.	Spojine, za katere v literaturi še ni podatkov o njihovem ED.
Tiametoksam	Pirimifos-metil	Metaldehid
CuSO ₄	Linuron	Dazomet
Prosulfokarb	Dikamba	Acetamiprid
Vodikov peroksid	Terbutilazin	(E) - 8 - dodecen - 1 - il acetat
Dikvat	Klorotalonil	Z - 8 - dodecil acetat
	Cimoksanil	Z - 8 - dodecen - 1 - ol
	2,4-D	E,E 8,10 - dodekadien - 1 - ol (codlemone)
	Azadirahatin A	Milbemektin
	MCPA=2-metil-4-klorofenoksiocetna kislina	Hipoklorna kislina
	Mekoprop-p	Mravljična kislina
		Klorovodikova kislina
		Natrijev bromid (kot HBr)
		Bromov klorid
		Glioksal
		Etanol
		Oksazolidin
		Formaldehid

4.1.1 SPOJINE, ZA KATERE SMO DOBILI NEGATIVNE REZULTATE, KI SO V NASPROTJU S PODATKI IZ LITERATURE

- **Pirimifos-metil**

Pirimifos-metil je tiofosfat organskega izvora. Uporablja se kot insekticid in deluje tako, da prehaja v telo žuželke preko povrhnjice ter vpliva na prenos živčnih impulzov s tem, da inhibira encim acetilholinesterazo [100]. Orton in sodelavci so dokazali, da pirimifos-metil deluje antiandrogeno v pogojih *in vitro*, tako sam kot tudi v kombinacijah z drugimi pesticidi [101,102]. Ngoula in sodelavci pa so ugotovili, da omenjena spojina deluje antiandrogeno v pogojih *in vivo*, in sicer samcih podgan. Dokazali so tudi, da deluje škodljivo na moda podgan in s tem na njihove reproduktivne zmožnosti [103]. Podatki o biomonitoringu na ljudeh pa ne obstajajo.

S programom Endocrine disruptome nismo zaznali interakcij med pirimifos-metilom in androgenimi ter drugimi steroidnimi receptorji.

- **Linuron**

Linuron pripada razredu organskih spojin, ki se imenujejo N-feniluree. To so spojine, ki v svoji strukturi vsebujejo fenilno skupino, vezano na dušikov atom sečnine [80,104]. Linuron je kontaktni herbicid, ki deluje tako, da inhibira fotosintezo. Lambright in sodelavci so dokazali, da linuron deluje kot antagonist androgenskega receptorja v pogojih *in vitro* in *in vivo*. Teste *in vitro* so izvedli na človeški celični liniji COS in celicah prostate samcev podgan. Študije *in vivo* pa so opravili na živalskih modelih, in sicer s samci podgan [105].

S programom Endocrine disruptome nismo zaznali interakcij med linuronom in androgenimi ter drugimi steroidnimi receptorji.

- **Dikamba**

Dikamba je derivat O-metoksibenzojske kisline. Deluje kot herbicid, ki se uporablja samostojno ali v kombinaciji z drugimi herbicidi.

Deluje tako, da posnema delovanje rastlinskega hormona auksina, s čimer povzroči nenadzorovano rast, kar povzroči uničenje rastline [106]. Zhu in sodelavci so v eni od študij vpliva dikambe na endokrini sistem pokazali, da ta zavira spermatogenezo v modih ribjih samčkov in povzroča degeneracijo jajčnikov ribjih samičk. Avtorji menijo, da je treba dikambo upoštevati kot potencialnega hormonskega motilca [107].

V podatkovni bazi PubChem je navedeno, da interakcij med to spojino ter ER α , ER α (an), AR, AR(an), RXR α , PPAR α , PPAR δ (β), PPAR γ , GR, GR(an) in TR ni, kar se ujema z našimi rezultati.

- **Terbutilazin**

Terbutilazin je širokospektralni herbicid z močnim in hitrim učinkom. Spojina je substituiran klorotriazin in deluje tako, da inhibira fotosintezo.

Nekaj virov navaja, da ima terbutilazin v pogojih *in vitro* potencialno endokrino aktivnost, ki je posledica moduliranja estrogenskih in androgenih receptorjev ter njegovega vpliva na aromatazo. Testirali so ga tudi v kombinacijah z drugimi pesticidi [108,109]. Glede na nekatere vire ga uvrščajo v skupino spojin, ki so potencialni hormonski motilci, za potrditev česar pa bi bilo potrebno izvesti še dodatna testiranja [110,111].

S programom Endocrine disruptome nismo dobili nobenih podatkov o njegovih interakcijah s steroidnimi in drugimi jedrnimi receptorji.

- **Klorotalonil**

Klorotalonil je širokospektralni fungicid iz skupine benzonitrilov [80,112]. Deluje tako, da inhibira klitje spor plesni [113]. Uporablja se v kombinaciji z drugimi pesticidi. Klorotalonil aktivira proliferacijo celic, ki so občutljive na androgene [114]. McMahon in sodelavci so dokazali, da povzroča neželjene učinke pri dvoživkah, saj zavira njihov imunski sistem in pri koncentracijah, katerim smo ljudje pogosto izpostavljeni. Isti raziskovalci so pokazali nemonoton odgovor smrtnosti v odvisnosti od koncentracije klorotalonila [115]. Klorotalonil je uvrščen v skupino spojin, ki so potencialni endokrini motilci in za katere so potrebne dodatne informacije, da lahko njihov tovrstni status zares potrdimo [110]. V podatkovni bazi PubChem lahko zasledimo podatke o njegovih interakcijah z RXR α , TR β , GR(an), AR(an), ER α , ER α (an), PPAR γ in PPAR δ (β).

V drugih virih je klorotalonil opredeljen kot spojina, za katero še ni na voljo podatkov, da dejansko deluje na endokrini sistem [81,111,116]. Priporočajo dodatne študije za vrednotenje njegovih endokrinih učinkov na populaciji dvoživk in vplivov na človeško zdravje.

S programom Endocrine disruptome nismo zaznali interakcij med klorotalonilom in jedrnimi receptorji.

- **Cimoksanil**

Cimoksanil je sistemski fungicid, ki se uporablja tako kurativno kot preventivno. Kemično spada med derivate karboksiimidne kisline [80,117]. V preparatih se nahaja kot samostojna sestavina ali pa v kombinaciji z drugimi fungicidi.

Cimoksanil deluje tako, da hitro prehaja v rastlino, dež pa ga ne more odplakniti [118]. V več kroničnih študijah na podganah in miših so opazili njegove učinke na reproduktivne organe (moda in jajčnike), kot tudi na zmanjšano plodnost v dveh generacijah podgan [111]. Podatki o mehanizmu teh učinkov še niso na voljo [111].

V podatkovni bazi PubChem smo zasledili, da spojina ne intereagira z ER α , ER α (an), AR, AR(an), GR, GR, PPAR α , PPAR δ (β), PPAR γ in RXR α , kar se ujema z našimi rezultati, saj so bile vse interakcije s temi receptorji uvrščene v razred zelen.

- **2,4-Diklorofenoksiocetna kislina (2,4-D)**

2,4-D je derivat fenoksiocetne kisline in pogosto uporabljan sistemski herbicid [119]. V preparatih je prisoten v kombinaciji z drugimi herbicidi, kot so: mekoprop-P, glifosat, dikamba, itd.

Deluje tako, da posnema delovanje rastlinskega hormona auksina in tako povzroča hitro rast celic. Zaradi tega je vaskularni transportni sistem rastline inhibiran, kar povzroči njeno smrt [120].

Podatkih v virih potrjujejo, da je 2,4-D domnevni endokrini motilec [110,111,119,120,121]. Ameriški Nacionalni inštitut za varnosti in zdravje pri delu (NIOSH) je leta 2005 objavil podatke o raziskavah na Nizozemskem, ki so pokazale, da 2,4-D izpodriva spolne hormone iz prenašalnih proteinov v krvi. Prav tako je poročal o rezultatih študij narejenih na Univerzi v Missouri, ki so pokazali močno korelacijo med visoko koncentracijo 2,4-D v urinu in nizkim številom spermijev, velikim številom nenormalnih spermijev ter atrofijo mod. Obstajajo tudi podatki NIOSH o študijah izvedenih na Univerzi v Minnesoti, ki so pokazale, da v celicah raka dojke 2,4-D oponaša estrogene [122]. V kombinaciji s testosteronom pa ima 2,4-D sinergistične androgene učinke [114]. Podatki iz PubChem kažejo, da ni interakcij med spojino in za nas relevantnimi jedrnimi receptorji, kar se ujema z našimi rezultati.

- **Azadirahthin a**

Azadirahthin a je naravna snov, ki se nahaja v čudežnem drevesu neem in spada v skupino organskih spojin, ki jih imenujemo tetranortriterpenoidi. Strukturno je podoben ekdizonom hormonom insektov. Omenjeni hormoni nadzorujejo proces metamorfoze, ki predstavlja prehod insekta iz ličinke v bubo in na koncu v odraslo žuželko. Azadirahthin a je zaviralec proizvodnje in sproščanja hormonov ekdizonov. Preprečuje levitev žuželk, s čimer prekinja njihov življenjski cikel [123].

V določenih literaturnih virih je azadirahthin a naveden kot endokrin motilec, obstajajo pa tudi nasprotno trditve [124]. V podatkovni bazi PubChem so navedeni podatki, ki kažejo, da ni interakcij med azadirahthinom a in preiskovanimi jedrnimi receptori, kar se ujema z napovedmi programa ED.

- **2-metil-4-klorofenoksiacetna kislina (v nadaljevanju besedila: MCPA)**

MCPA je sistemski herbicid iz skupine derivatov fenoksiacetne kisline. Deluje tako, da se kopiči v aktivno rastočih delih rastline (meristemsko tkivo), kjer ovira sintezo beljakovin, delitev celic in s tem rast [125]. V preparatih je bodisi sam ali pa v kombinaciji z drugimi herbicidi.

MCPA ima stimulativen učinek na steroidogenezo v pogojih *in vitro* [126]. Endokrini učinki te spojine so večinoma neznani. Nahaja se povsod v okolju v visokih koncentracijah, zaradi česar potrebujemo več raziskav v pogojih *in vivo* [126]. S

programom ED nismo dobili nobenih napovedi interakcij s steroidnimi in drugimi jedrnimi receptorji.

- **Mekoprop-P (MCP)**

Mekoprop-P ali MCP je selektiven herbicid hormonskega tipa. Absorbira se preko listov rastlin in se pomakne v njihove korenine. Vpliva na encimsko aktivnost in rast rastlin [127].

Enako kot MCPA, tudi MCP stimulira steroidogenezno v pogojih *in vitro* [126]. S poskusi *in vitro* so dokazali njegovo z receptorji posredovano antiestrogensko aktivnost [126]. Program ED nam ni pokazal nobenih interakcij s steroidnimi in drugimi jedrnimi receptorji.

Endokrini učinki MCP niso znani, vendar pa se tako kot MCPA v okolju nahaja v visokih koncentracijah, zato potrebujemo dodatne raziskave v pogojih *in vivo* za dejansko potrditev njegovega hormonskega delovanja.

4.1.2 SPOJINE, ZA KATERE V LITERATURI ŠE NI PODATKOV O NJIHOVEM ENDOKRINEM DISRUPTIVNEM DELOVANJU

Za to skupino spojin v literaturi nismo našli podatkov o tem, da lahko povzročajo endokrino disrupcijo. Od 17 spojin iz te skupine, jih je 8 iz seznama biocidnih proizvodov, 9 pa iz seznama fitofarmaceutskih sredstev. S programom ED smo jih večkrat testirali in vedno dobili negativne rezultate, kar pomeni, da je možnost njihove vezave na vse izbrane receptorje razvrstil v zeleni razred. V Preglednici V so zato te spojine označene z zeleno barvo, njihovi rezultati vezave napovedani *in silico* pa se nahajajo v Prilogi 8.

4.2 SPOJINE, ZA KATERE SMO DOBILI POZITIVNE REZULTATE

Spojine, za katere smo dobili pozitivne rezultate, ki predstavljajo majhno (oznaka +, rumeni razred), večjo (oznaka ++, oranžni razred) in zelo visoko verjetnost vezave (oznaka +++, rdeči razred) na izbrane receptorje, smo razvrstili v tri skupine, in sicer:

- spojine, za katere smo dobili pozitivne rezultate, ki so v nasprotju s podatki iz literature;
- spojine, za katere v literaturi še ni podatkov o njihovem endokrinem disruptivnem delovanju;
- spojine, pri katerih se rezultati iz literature ujemajo s tistimi, ki smo jih dobili s programom ED.

Spojine iz teh podskupin so navedene v Prilogi 9. Odločili smo se, da se bomo osredotočili na tiste, za katere smo dobili rezultate (+++) in (++) oz. tiste, ki izkazujejo bodisi zelo veliko verjetnost (rdeči razred) za vezavo na receptorje ali pa srednje veliko verjetnost (oranžni razred).

Preglednica VI: Spojitve, za katere smo dobili pozitivne rezultate in tiste med njimi, ki so potrjeni/domnevni/možni endokrini motilci. Z rdečo barvo so označene spojine, za katere obstajajo podatki o njihovi endokrini disrupciji, s črno barvo pa tiste, za katere bodisi nismo našli tovrstnih podatkov ali pa so ti bili v nasprotju z našimi izsledki.

Spojine, za katere smo dobili pozitivne rezultate (+++) ali (++)	Potrjeni/domnevni/možni hormonski motilci z rezultati (+++) ali (++)
Dimetomorf	Dimetomorf
Beta-ciflutrin	Beta-ciflutrin
Ciflutrin	Ciflutrin
Giberelinska kislina (GA3)	Giberelinska kislina (GA3)
Alfa-cipermetrin	Alfa-cipermetrin
Teflutrin	Teflutrin
Fludioksonil	Fludioksonil
Oksifluorfen	Oksifluorfen
Fluazinam	Fluazinam
Flutriafol	Flutriafol
Lambda cihalotrin	Lambda cihalotrin
Cihalotrin	Cihalotrin
Fenheksamid	Fenheksamid
Tau-fluvalinat	Tau-fluvalinat
Epoksikonazol	Epoksikonazol
N-[[[(4-klorofenil)amino]karbonil]-2,6-difluorobenzamid	N-[[[(4-klorofenil)amino]karbonil]-2,6-difluorobenzamid
Flufenacet	Flufenacet
Flurokloridon	Flurokloridon
Permetrin	Permetrin
Etofenproks	Etofenproks
D-fenotrin	D-fenotrin
Bifenil-2-ol	Bifenil-2-ol
Tetrametrin	Tetrametrin
Piriproksifen	Piriproksifen
Metkonazol	Metkonazol
Kumatetralil	
Boskalid	
Fluopikolid	
Piretrin 1	
Fluopiram	
Tebufenpirad	
Diflufenikan	
Iprovalikarb	
Giberelini(A4 in A7):A4	
Giberelini(A4 in A7):A7	
Fenpropimorf	
Ciflufenamid	
Famoksadon	
Tienkarbazon	
Cinkov pirition	
Izoksafutol	
Fenpropidin	
Mezotrin	
Fenmedifam	
Metaflumizon	
Tritosulfuron	
Florasulam	

(Nadaljevanje Preglednice VI):

Spojine, za katere smo dobili pozitivne rezultate (+++) ali (++)	Potrjeni/domnevni/možni hormonski motilci z rezultati (+++) ali (++)
Transflutrin	
Pralettrin	
Brodifakum	
Bromadiolon	
Alfa-ciano-3-fenoksibenzil 2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciklopropankarboksilat	
Difenakum	
Kvinoksifen	
Beflubutamid	
β – Kariofilen	
Germakren	
α – Humulen	
2,2'-Ditiobis[Nmetilbenzamid]	
Flokumafen	

Preglednica VI torej prikazuje spojine, za katere nismo našli podatkov v literaturi in tiste, ki so potrjeni / domnevni / možni endokrini motilci na osnovi rezultatov iz študij *in vitro* ter *in vivo*, opisanih v nam dostopni literaturi.

4.2.1 Potrjeni / domnevni / možni endokrini motilci z rezultati (+++) in (++)

V nadaljevanju smo pregledali vse spojine iz skupine potrjeni / domnevni / možni endokrini motilci, tako da smo naše rezultate primerjali s tistimi iz literature. V Preglednici VII prikazujemo, v katero skupino pesticidov sodi posamezna spojina.

Preglednica VII Razdelitev spojin, ki predstavljajo potrjene / domnevne / možne endokrine motilce, v ustrezno skupino pesticidov (fitofarmacevtska sredstva in biocidni proizvodi).

Fitofarmacevtska sredstva.	Biocidni proizvodi.
Dimetomorf	Ciflutrin
Beta-ciflutrin	N-[(4-klorofenil)amino]karbonil]-2,6-difluorobenzamid
Giberelinska kislina (GA3)	Permetrin
Alfa-cipermetrin	Etofenproks
Teflutrin	D-fenotrin
Fludioksonil	Bifenil-2-ol
Oksifluorfen	Tetrametrin
Fluazinam	Piriproksifen
Flutriafol	
Lambda cihalotrin	
Cihalotrin	
Fenheksamid	
Tau-fluvalinat	
Epoksikonazol	
Flufenacet	
Flurokloridon	
Metkonazol	

- **Dimetomorf**

Dimetomorf je derivat cimetove kisline in pripada skupini morfolinskih derivatov. Je sistemski fungicid in deluje tako, da moti tvorbo celične stene plesni [128].

Dokazano deluje kot antagonist androgenskega receptorja v pogojih *in vitro* [101]. Orton in sodelavci so v pogojih *in vitro* dokazali, da veliko število kemikalij, ki so antagonisti AR, tako kot dimetomorf, tudi v mešanicah delujejo na ta receptor, in sicer v koncentracijah, pri katerih antagonistični učinek posameznih spojin sploh ni opazen. To pomeni, da bi pri testiranju nizkih koncentracij posameznih fungicidov na njihovo antagonistično delovanje na AR, dobili negativne rezultate, njihove kombinacije pa bi lahko delovale kot antagonisti tega receptorja [129].

Naši rezultati kažejo na šibke interakcije z AR(an), uvrščene v zeleni/rumeni razred. Študije *in vitro* pa dimetomorf uvrščajo med "čiste" antagoniste AR [130]. Podatki iz baze PubChem pa govore o negativnih rezultatih pri ER α , AR, PPAR α , PPAR γ , RXR α in TR β , kar se ujema z našimi izsledki. Podatkovna baza PubChem tudi navaja, da ni nobenih interakcij z AR(an) in GR(an), kar pa se ne ujema v celoti z našimi napovedmi, ki prikazujejo pozitiven rezultat v primeru GR(an) (zeleni/rumeni razred). Pozitiven rezultat smo dobili tudi za naslednje receptorje: ER α (an) – zeleni/rumeni razred, ER β (an) – oranžni razred ter GR – rumeni razred.

Študij, ki bi dokazovale antagonistični učinek dimetomorfa na AR, kakor tudi njegovo delovanje na druge receptorje v pogojih *in vitro* ter *in vivo*, kolikor nam je znano po pregledu dostopne literature in baz podatkov, še ne obstajajo. Zato bi bilo potrebno to spojino temeljito preveriti za popolno ovrednotenje njenega endokrinega učinka.

- **Ciflutrin in beta-ciflutrin**

Ciflutrin in beta-ciflutrin sta sintetična širokospektralna piretroidna insekticida, pri čemer je drugi, torej beta-ciflutrin izomerna oblika ciflutrina [131]. Delujeta tako, da inhibirata membranske sisteme natrijevih kanalčkov v ciljnem organizmu in s tem motita prenos živčnih dražljajev. Ciflutrin in beta-ciflutrin sta kontaktna insekticida, zato ne delujeta sistemsko in ne prodreta v rastlinsko tkivo [132]. Obe spojini imata enak toksikološki profil. Odvisno od uporabljenega vehikla je beta-ciflutrin približno 2-5 krat bolj akutno toksičen kot ciflutrin [133]. Oba sta zelo lipofilna in se akumulirata v maščobnih tkivih [131,133]. Z raziskavami *in vivo* na živalih (miši in podgane) so ugotovili, da beta-ciflutrin povzroča večje draženje respiratornega trakta kot ciflutrin [134]. Testiranja učinkov ciflutrina in beta-ciflutrina na celično linijo MDA-kb2 *in vitro* so pokazala, da obe spojini

blokirata s 5-dihidrotestosteronom (DHT) inducirano dejavnost AR [135]. Ista skupina znanstvenikov je opravila tudi test *in vivo* po Hershberger-ju, z uporabo različnih koncentracij obeh spojin. Dokazali so, da pri večjih koncentracijah povzročita občutno zmanjšanje teže semenskih veziklov, ventralnega in dorzolateralnega dela prostate ter Cowper-jeve žleze. Sprememba teže glavice penisa ni bila znatna. V manjši koncentraciji je beta-ciflutrin povzročil zmanjšanje teže semenskih veziklov, ni pa vplival na druga spolna tkiva. Podali so sklep, da sta ciflutrin in beta-ciflutrin zmerna antiandrogena, ki tovrstne učinke izzoveta vsaj delno z antagonističnim delovanjem na AR [135].

Guizhen in sodelavci s Kitajskega inštituta za toksikologijo so podali oceno dejavnosti piretroidnih insekticidov, med katere sodi tudi ciflutrin, na AR, ER in TR v pogojih *in vitro* [136]. Ugotovili so, da ima ciflutrin antagonistični učinek na AR, ER in TR. Testirali so tudi učinke metabolitov piretroidnih insekticidov in opazili, da spojina cis-/trans-3-(2,2-diklorovinil)-2,2-dimetilciklopropan karboksilna kislina (DCCA), ki je metabolit ciflutrina, kaže 100-1.000-krat večji antagonistični učinek na ER kot starševska spojina [136].

Naši izsledki so predstavljeni v Preglednici VIII.

Preglednica VIII: Rezultati, dobljeni s testiranjem beta-ciflutrina in ciflutrina s programom ED.

Spojina	Receptor	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
	Uporaba																
Beta-ciflutrin	Insekticid	0	0/+	+	0/+	0	0/+	+	+	0/+	0/+	0	0	0/+	+	+	++
Ciflutrin	Insekticid	0	+	+	0	0	0/+	+	0/+	+	0/+	0	0	0/+	+	+	++

Vidimo, da se naši rezultati le delno ujemajo s tistimi iz literature, saj je program ED napovedal tudi interakcije z GR, LXR α , LXR β , PPAR γ , RXR α , TR α in TR β .

Pri testiranju ciflutrina smo dobili zelo podobne rezultate kot pri beta-ciflutrinu, torej se naši rezultati le delno ujemajo s tistimi iz literature, enako pa velja tudi za podatke iz podatkovne baze PubChem za ciflutrin. Na osnovi teh podatkov lahko zaključimo, da ne pride do vezav z naslednjimi receptorji oz. njihovimi agonističnimi oblikami: GR(an), AR(an), ER α in PPAR γ , kar pa se ne ujema z našimi izsledki. Navajajo pa tudi, da ne pride do vezav na AR, ER α (an) in PPAR δ (β), kar se ujema z našimi rezultati. Poleg tega smo našli podatek o vezavi s TR, vendar pa ni omenjeno, katera izooblika receptorja sodeluje v tej interakciji.

Številni viri uvrščajo beta-ciflutrin in ciflutrin kot potencialne oziroma verjetne endokrine motilce [74,110,111,121,136-139]. Glede na veliko število *in vivo* ter *in vitro* študij o

interakcijah beta-ciflutrina in ciflutrina z jedrnimi receptorji ter naše izsledke, ki potrjujejo njune tovrstne interakcije in dodatne reaktivnosti z drugimi jedrnimi receptorji, bi bilo potrebno izvesti nove raziskave na to temo in jih razširiti še s preučevanjem delovanja piretroidnih metabolitov na jedrne receptorje.

- **Giberelinska kislina (GA3)**

Giberelinska kislina (GA3) je naravni rastlinski hormon, ki se uporablja kot fitoregulator. Rastline proizvajajo majhne količine GA3, zato ta hormon industrijsko pridobivamo s pomočjo mikroorganizmov. GA3 pripada skupini rastlinskih hormonov, ki se imenujejo giberelini. Endogeni giberelini vplivajo na različne razvojne procese rastlin, npr.: debelitev stebela, nadzor klitja semen in prekinitev mirovanja vegetacijskih procesov. Vplivajo tudi na prehod rastline iz juvenilne v zrelo fazo, indukcijo cvetenja in določanje spola. GA3 je tudi prvi strukturno karakteriziran giberelin. Gre za tetraciklično diterpenoidno spojino [140,141].

Nekaj virov, ki smo jih našli med literaturnim pregledom, navaja njegove možne učinke na endokrini sistem. Tako smo zasledili, da GA3, ki je mimetik 17β -estradiola, lahko stimulira ovulacijo in valjenje jajc pri nekaterih vrstah ptic, npr. kakapojih (*Strigops habroptilus*). Prav tako obstajajo podatki o povečani reprodukciji sivih ververic (*Sciurus carolinensis*), ki so se hranile z brsti borovnic, predhodno tretirani z GA3 [142]. Testi na samcih podgan so pokazali, da GA3 spodbuja steroidogenezo [143]. Lu in sodelavci so raziskovali možne učinke GA3 na ER *in vitro* ter potrdili, da GA3 lahko preko omenjenega mehanizma izzove estrogensko aktivnost pri človeku [144].

Ameriška agencija za varstvo okolja ne poroča o interakcijah med GA3 in jedrnimi receptorji. Različni literaturni viri pa vsebujejo podatke o možnih interakcijah in pozivajo k novemu pregledu varnosti GA3. Tudi mi smo dobili zaskrbljujoče rezultate *in silico*, in sicer napovedane interakcije z AR oranžnega razreda, kar se ujema z izsledki iz literature. Naša napoved za interakcije GA3 z AR(an) je razvrščena v rdeči razred, kar pa ni skladno s podatki v pregledani literaturi. Interakcije z ER α , ER α (an) in ER β smo uvrstili v rumeni razred, kar se delno ujema z rezultati iz literature, ki omenjajo, da je GA3 agonist estrogenskega receptorja, pri tem pa se ne ve, na kateri podtip estrogenskega receptorja (ER α ali ER β) se omenjena spojina veže. Program ED je možnost interakcije z GR in GR(an) uvrstil v rumeni razred. V literaturi nismo zasledili podatkov o interakcijah med GA3 in GR ali TR, ED je interakcije s TR α in TR β uvrstil v rumeni razred.

- **Alfa-cipermetrin**

Alfa-cipermetrin je sintetični piretroid, ki se uporablja kot insekticid. V insektih deluje kot hitro-delujoči nevrotoksin. Alfa-cipermetrin spada v podskupino izomerov matične spojine cipermetrina, skupaj z beta-cipermetrinom, theta-cipermetrinom in zeta-cipermetrinom [80,145]. Zanimivo je, da veliko pregledanih virov ne upošteva razlik med alfa-cipermetrinom in cipermetrinom.

Cipermetrin je sestavljen iz 8 izomerov, in sicer 4 cis- in 4 trans-izomerov. Cis-izomeri so biološko bolj aktivni kot trans-izomeri. Alfa-cipermetrin pa je sestavljen iz 1R-cis alfa-cipermetrina in 1S-cis alfa-cipermetrina. Ta dva enantiomera izkazujeta 90 % insekticidne aktivnosti, kar pomeni, da je alfa-cipermetrin najaktivnejši cis-izomer cipermetrina [146].

Kar se tiče njegove endokrine disrupcije, ga v nekaj virih obravnavajo kot racemno zmes in ne v obliki posameznih izomerov, poleg tega pa cipermetrin uporabljajo kot sinonim za alfa-cipermetrin.

Za cipermetrin smo našli podatke o njegovih interakcijah z AR. S testi *in vitro* in *in vivo* so dokazali antagonistične učinke cipermetrina v sesalcih in ribah [147]. Interakcije alfa-cipermetrina z AR(an) je program ED razvrstil v rumeni razred. V literaturi nismo našli prepričljivih dokazov o interakcijah med to spojino in ER. Medtem ko so bile raziskave *in vivo* negativne, pa so študije *in vitro* dale nasprotujoče si rezultate, pri čemer ene raziskave kažejo na šibke interakcije, druge pa poročajo, da jih ni bilo [147]. Kojima in sodelavci iz inštituta za javno zdravje na Hokkaidu na Japonskem so poročali o interakcijah med ER α in cipermetrinom [114,148]. Naši rezultati za alfa-cipermetrin predvidevajo le šibke interakcije z ER α , ki jih je program razvrstil tako v zeleni kot v rumeni razred.

Našli smo tudi nekaj poročil o vezavi spojine z receptorji TR, vendar pa so si nasprotujoče. Medtem ko Akerman s sodelavci v članku navaja, da tovrstnih interakcij ni, pa smo v poročilu druge študije zasledili, da so ugotovili šibke interakcije med cipermetrinom in TR β [136,147]. Naši rezultati za alfa-cipermetrin so bili pozitivni, saj je ED interakcijo s TR α razvrstil v rumeni, za TR β pa v oranžni razred.

Cipermetrin deluje antagonistično na GR [149]. S testiranjem alfa-cipermetrina *in silico* smo pokazali, da deluje agonistično na GR, pri čemer je ED to interakcijo razvrstil v rumeni razred. Pozitivne rezultate smo dobili še za interakcije z LXR α (rumeni razred), RXR α (rumeni razred) in PPAR γ (rumeni razred). Podatki, pridobljenih iz baze PubChem, navajajo, da ni vezav z ER α , ER α (an), GR, GR(an), PPAR δ (β), PPAR γ , RXR α , TR β , AR(an) in AR, zato se le delno ujemajo z našimi izsledki.

- **Teflutrin**

Teflutrin je sintetični piretroid, ki se uporablja kot kontaktni insekticid in deluje na respiratorni trakt insekta [74,150].

S testi *in vitro* so dokazali njegove interakcije z AR v fibroblastnih celicah človeške kože [151]. V nekaterih virih ga zato opredeljujejo kot možnega ali verjetnega endokrinega motilca [121,150,152]. Program ED je verjetnost vezave te spojine na preučevane receptorje razvrstil takole (Preglednica IX).

Preglednica IX: Rezultati testiranja teflutrina s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Teflutrin	Insekticid	++	+++	++	+	+	+	+	+	+	+	0	0/+	0/+	+	+	++

Podatkovna baza PubChem pa prikazuje negativne rezultate s skoraj vsemi v preglednici navedenimi receptorji.

Ker nekateri viri teflutrin uvrščajo v skupino možnih oz. verjetnih endokrinih disruptorjev, naši rezultati pa napovedujejo njegovo vezavo na različne jedrne receptorje, menimo, da so nujno potrebne dodatne raziskave za potrditev endokrinega delovanja te spojine.

- **Fludioksonil**

Fludioksonil je nesistemiški fungicid, ki inhibira fosforilacijo glukoze in s tem zmanjša rast micelijev [80,153]. S testi *in vitro* so dokazali, da deluje kot antiandrogen, kar se ujema tudi z našimi rezultati, saj je ED interakcijo z AR(an) razvrstil v oranžni razred [101,154]. Zasedili smo tudi podatek, da fludioksonil aktivira endogeni ER α in AR v pogojih *in vitro* [155,156].

Ti podatki se le delno ujemajo z našimi izsledki, saj je ED napovedal šibko vezavo za AR, ki jo je razvrstil v rumeni razred, enako pa velja tudi za ER β . Program ni pokazal vezave na ER α oz ER α (an), napovedal pa je vezave na GR, TR α in TR β in to uvrstil v rumeni razred. To pa se ne ujema s podatki dostopnimi v bazi PubChem, ki navajajo, da ne pride do vezave fludioksonila na GR in TR β .

Morebitni učinki te spojine *in vivo* še niso ovrednoteni, zato bi bilo treba nujno izvesti tovrstne študije.

- **Oksifluorfen**

Oksifluorfen je selektivni kontaktni herbicid, ki za vpliv na ciljne rastline potrebuje svetlobo [80,157]. V podatkovni bazi Fluoride action network je navedeno, da ima endokrino delovanje. Deloval naj bi na nadledvično žlezo, hipofizo, priželjc in ščitnico

[158]. Podatki iz baze PubChem podajajo različne informacije o vezavi oksifluorfena na AR(an) in ER α (an) in opozarjajo, da je potrebna previdnost pri njihovi razlagi, saj lahko pride do nepravilne interpretacije zaradi nespecifičnih učinkov, ki so jih opazili pri testiranjih. Program ED je napovedal vezavo oksifluorfena na AR(an) in jo uvrstil v oranžni razred, medtem ko je interakcijo z ER α (an) razvrstil v zeleni razred. Podatkovna zbirka PubChem navaja, da se ta spojina ne veže na AR, GR, GR(an), PPAR δ (β), PPAR γ , RXR α , ER α , ER α (an) in TR β . Ti podatki se le delno ujemajo z našimi izsledki, saj je ED napovedal vezavo na AR (oranžni razred), GR (rumeni razred), ER α (zeleni/rumeni razred) in TR β (rumeni razred).

Naši rezultati prav tako kažejo na njegov vpliv na ščitnične receptorje, pri čemer je ED razvrstil interakcijo s TR α uvrstil v oranžni, s TR β pa v rumeni razred.

- **Fluazinam**

Fluazinam je širokospektralni fungicid. Deluje kot močan odklopnik oksidacije v procesu oksidativne fosforilacije v mitohondrijih in zelo izrazito reagira s tioli. Fluazinam je zaščitni fungicid, ki deluje tako, da preprečuje klitje spor in razvoj okužbe v rastlinah [80,159].

Je šibak antagonist PPAR γ , kar pa se ne ujema z našimi izsledki, saj je program ED ni napovedal interakcije s tem receptorjem (zeleni razred) [160]. Podatki v zbirki PubChem prav tako kažejo, da se fluazinam veže na PPAR γ . S testi *in vivo* so ugotovili povečanje ščitnice pri psih, vendar pa niso navedli, na katere ščitnične receptorje fluazinam deluje [161]. Program ED je verjetnost vezave te spojine na preučevane jedrne receptorje razvrstil tako, kot to prikazuje Preglednica X.

Preglednica X: Rezultati testiranja fluazinama s programom ED.

Spojina	Receptor	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
	Uporaba																
Fluazinam	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0/+	0	0	0	0	0	+	++

V podatkovni bazi T3DB so AR, RXR α , GR, PPAR α in PPAR γ navedeni kot možne tarče fluazinama, v podatkovni zbirki PubChem pa navajajo, da pride do vezav na GR(an), ER α (an), ER α , PPAR δ (β), ne pa tudi na PPAR α in AR.

Fluazinam uvrščajo v skupino potencialnih hormonskih motilcev [74,110,111].

- **Flutriafol**

Flutriafol je preventivni in kurativni širokospektralni fungicid s kontaktnim in sistemskim delovanjem, ki inhibira biosinteze sterolov [74,162]. Obstaja tudi sum, da je endokrini

motilec [163,164]. Označen je kot šibak estrogenski inhibitor, vendar študije in podrobni podatki o tem niso na voljo [114,164]. Naši izsledki kažejo na njegovo možno vezavo na vse receptorje ER ($ER\alpha$, $ER\alpha(\text{an})$, $ER\beta$ in $ER\beta(\text{an})$), pri čemer je program ED te interakcije ravnostil v rumeni razred. V podatkovni bazi PubChem smo zasledili, da se ne veže na $ER\alpha$ in $ER\alpha(\text{an})$. Program ED je napovedal šibke interakcije z AR in jih razvrstil v zeleni/rumeni razred ter močnejše interakcije z $AR(\text{an})$ (oranžni razred). Oba omenjena rezultata se ne ujemata s podatki iz baze PubChem, kjer tovrstni vezavi nista omenjeni. Interakcije z GR, $TR\alpha$ in $TR\beta$ je program razvrstil v rumeni razred. Podatki iz baze PubChem kažejo, da se flutriafol ne veže na $TR\beta$. PubChem tudi navaja, da spojina ne intereagira z $GR(\text{an})$, $PPAR\alpha$, $PPAR\delta(\beta)$, $PPAR\gamma$ in $RXR\alpha$, kar pa se ujema tudi z našimi napovedmi.

- **Lambda-cihalotrin in cihalotrin**

Cihalotrin in lambda-cihalotrin sta sintetična piretroidna insekticida. Lambda-cihalotrin je zelo podoben cihalotrinu, zaradi česar raziskovalci včasih uporabljajo teste toksičnosti cihalotrina za oceno toksičnosti obeh [165]. Lambda-cihalotrin je sestavljen iz dveh od štirih možnih enantiomernih oblik, v katerih se lahko nahaja cihalotrin [166].

Lambda-cihalotrin in drugi piretroidni insekticidi motijo delovanje živčnega sistema žuželk, s čimer lahko povzročijo njihovo paralizo ali smrt. Na toksičnost lambda-cihalotrina in stopnjo paralize insektov vpliva temperatura okolja. Lambda-cihalotrin lahko deluje tudi kot repelent [165].

S testi *in vitro* so pokazali, da ima lambda-cihalotrin estrogenske lastnosti, in da lahko deluje kot ksenoestrogen, verjetno preko mehanizma, ki je podoben tistemu pri 17β -estradiolu. Podrobnosti o mehanizmu delovanja pa še niso znani [114,167]. Naši rezultati so nakazali možnost interakcije lambda-cihalotrina z estrogenskimi receptorji $ER\alpha$ in $ER\beta$ (rumeni razred), medtem ko je program ED nakazal njegovo zelo šibko interakcijo z $ER\alpha(\text{an})$ (enkrat zeleni, drugič rumeni razred). Za cihalotrin smo dobili pozitiven rezultat pri $ER\alpha$ in $ER\alpha(\text{an})$ (rumeni razred).

Orton in sodelavci so s študijo *in vitro* dokazali antiandrogeno delovanje lambda-cihalotrina [101]. Naši izsledki se ujemajo z njihovimi, saj je bila napoved vezave na $AR(\text{an})$ za lambda-cihalotrin in cihalotrin razvrščena v rumeni razred.

Mreža PAN-Europe poroča, da lambda-cihalotrin zmanjšuje izločanje ščitničnih hormonov [164]. Rezultati, ki smo jih pridobili s programom ED, potrjujejo vpliv obeh spojin na TR, in sicer na $TR\alpha$ v okviru rumenega razreda, na $TR\beta$ pa v oranžnega razreda.

Mreža PAN-Europe poroča tudi o štirih neodvisnih testih *in vivo* izvedenih na sesalcih, ki so pokazali vpliv lambda-cihalotrina na ščitnične hormone, spermo, moda in imunost, zato ga uvršča v skupino spojin, ki izkazujejo lastnosti endokrine disrupcije [164]. Tudi drugi viri ga štejejo med potencialne endokrine motilce [110,121,168]. Preostali rezultati testiranja možnih vezav s programom ED so prikazani v Preglednici XI.

Preglednica XI: Rezultati testiranja lambda-cihalotrina in cihalotrina s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Lambda cihalotrin	Insekticid	0	+	+	0/+	0	+	+	0/+	+	+	0/+	+	++	++	+	++
Cihalotrin	Insekticid	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0/+	+++	+	++	+	++

Pri ocenjevanju varnosti uporabe obeh pesticidov moramo torej upoštevati njun potencial za endokrino disrupcijo.

• **Fenheksamid**

Fenheksamid je lokalni, sistemski in protektivni fungicid. Inhibira klitje spor in rast micelijev [80,169]. S poskusi *in vitro* so pokazali, da deluje kot antiandrogen [101,155]. Ti rezultati se ujemajo z našimi, saj je program ED uvrstil interakcije te spojine z AR(an) v oranžni razred. Enak rezultat smo dobili tudi za AR. Testi *in vitro* so pokazali šibko vezavo fenheksamida na AR, naši izsledki *in silico* pa srednje močno (oranžni razred) [156]. V pogojih *in vitro* so zaznali tudi agonistično delovanje na ER α , kar se ujema z našimi rezultati (zeleni/rumeni razred) [156]. Enak rezultat smo dobili tudi za ER β . V le eni študiji *in vivo* so pokazali rahel vpliv fenheksamida na ščitnico, ostale pa niso dale takih rezultatov [111]. Podatki iz podatkovne baze PubChem kažejo, da se ta spojina ne veže na TR β , kar se ne sklada z našimi ugotovitvami glede interakcij s TR α in TR β , ki ju je program ED razvrstil v rumeni razred. Pozitivne rezultate smo dobili tudi za interakcije z GR (rumeni razred), ER α (an) (zeleni/rumeni razred) in ER β (rumeni razred).

• **Tau-fluvalinat**

Tau-fluvalinat je širokospektalni sintetični piretroidni insekticid, ki deluje tako, da spremeni permeabilnost natrijevih kanalčkov živčnih membran, kar povzroči podaljšano depolarizacijo in hiperekscitabilnost. Tau-fluvalinat vsebuje dva od štirih izomerov, v katerih se lahko nahaja [170]. Ponavadi za študije njegovega endokrinega delovanja uporabljajo kar racemno zmes flavulinata. Dokazali so, da fluvalinat deluje kot antiandrogen. [171]. To se ujema z našimi rezultati, saj je program ED to spojino glede na napoved njene interakcije z AR(an) uvrstil v rumeni razred. S študijami uvrsti *in vitro* so

dokazali, da tau-fluvalinat vpliva na delovanje ščitničnega hormona trijodotironina (T_3) [172]. Tudi rezultati, ki jih je podal ED, so pokazali možne interakcije tau-fluvalinata s $TR\beta$ (rumeni razred). Omenjeni rezultati se torej ujemajo z našimi, saj je $TR\beta$ jedrni receptor, na katerega se veže T_3 . V študijah *in vitro* na receptorjih $PPAR\alpha$, ki so jih izolirali iz mišjih celic, so dobili negativne rezultate [148]. Ti se ne ujemajo z našimi, ki so napovedali močnejše interakcije med tau-fluvalinatom in $PPAR\alpha$ (oranžni razred). S prej omenjeno študijo *in vitro* so pokazali, da ni interakcij med tau-fluvalinatom in receptorji $ER\alpha$, $ER\alpha(an)$, $ER\beta$ ter $ER\beta(an)$ [148]. Tudi ti izsledki se ne ujemajo z našimi, ki so razvrstili $ER\alpha$ v oranžni in $ER\alpha(an)$ v rumeni razred. Interakcije z $ER\beta$ je program ED uvrstil v zeleni razred, kar se ujema z rezultati omenjene študije, medtem ko je reakcije z $ER\beta(an)$ razvrstil v zeleni/rumeni razred. V podatkovni zbirki PubChem smo prebrali, da se tau-fluvalinat ne veže na $ER\alpha$, $ER\alpha(an)$ in $PPAR\alpha$. S programom ED smo napovedali tudi pozitivne interakcije z GR (oranžni razred) in GR(an) (rumeni razred). Ti napovedi se ne ujemata s podatki iz baze PubChem, ki kažejo, da ne pride do vezav na te receptorje. Program ED je napoved vezav na $LXR\alpha$, $LXR\beta$ in $RXR\alpha$ razvrstil v rumeni razred, na $PPAR\beta$ in $PPAR\gamma$ pa v oranžni razred. Podatki iz podatkovne zbirke PubChem pa temu nasprotujejo, saj ne potrjujejo interakcij z $RXR\alpha$, $PPAR\delta(\beta)$ in $PPAR\gamma$. Nekateri viri zaradi navedenih podatkov, ki izvirajo iz različnih študij menijo, da je tau-fluvalinat oz. fluvalinat endokrini motilec [74,121,138,173].

- **Epoksikonazol**

Epoksikonazol je širokospektralni sistemski fungicid, ki deluje tako, da moti celični metabolizem in biosintezo, s čimer prepreči tvorbo spor in rast gliv [174].

Je šibak estrogenski inhibitor, ki inhibira aromatazo, s čimer zmanjša proizvodnjo estrogenov in poveča razpoložljivost androgenov [164]. Program ED je razvrstil interakcije epoksikonazola z $ER\alpha$, $ER\beta$ in $ER\beta(an)$ v oranžni, z $ER\alpha(an)$ pa v rumeni razred. Reprodukcijske in razvojne študije na podganah so pokazale zvišane ravni testosterona v plazmi starševskih samic pri visokih koncentracijah epoksikonazola. Plazemska koncentracija testosterona pri samcih pa se je rahlo zmanjšala. Opazili so, da epoksikonazol vpliva na nivoje spolnih hormonov pri odraslih podganah, ne vpliva pa na njihove zarodke. Povečala se je koncentracija progesterona v odraslih podganah [175]. Preostale rezultate napovednega testiranja ED so zbrani v Preglednici XII.

Preglednica XII: Rezultati testiranja epoksikonazola s programom ED.

Spojina	Receptor	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
	Uporaba	0	++	++	+	++	++	+	0	0/+	0	0	0	0	0	+	+
Epoksikonazol	Fungicid	0	++	++	+	++	++	+	0	0/+	0	0	0	0	0	+	+

V datoteki PubChem smo zasledili, da epoksikonazol ne reagira z nobenim od podtipov receptorjev PPAR, kar se ujema z našimi rezultati. V omenjeni podatkovni bazi smo našli različne podatke za interakcije z AR(an), ER α (an) in TR.

Epoksikonazol je bodisi samostojno ali v kombinacijah z drugimi fungicidi v dosegljivi literaturi razvrščen med potencialne endokrine motilce [110,138,164,176-181].

- **N-[[[(4-klorofenil)amino]karbonil]-2,6-difluorobenzamid (diflubenzuron)**

N-[[[(4-klorofenil)amino]karbonil]-2,6-difluorobenzamid ali diflubenzuron je inhibitor sinteze hitina, kar pomeni, da interferira z rastjo žuželk. Inhibitorji sinteze hitina motijo normalno sintezo zunajnega skeleta (eksoskeleta) v času mitarjenja žuželk ali valjenja jajčec. Diflubenzuron je torej nesistemski insekticid s kontaktnim delovanjem [182].

S študijami na racah, puranih, podganah in teletih so dokazali njegov vpliv na znižanje ravni androgenega hormona testosterona [183]. Z uporabo programa ED smo dobili napoved zelo močne interakcije med diflubenzuronom in AR(an) (rdeči razred). Šibkejše interakcije pa je program napovedal za AR (rumeni razred).

V študiji, ki so jo izvedli na ovcah so opazili zmanjšano težo ščitnice [184]. Tudi naši izsledki so pokazali šibke interakcije s ščitničnimi receptorji (zeleni/rumeni razred). Nasprotno pa PubChem navaja, da ne pride do vezav s TR β .

Nekaj neodvisnih laboratorijev je izvedlo teste *in vitro* in *in vivo* na celicah jajčnikov kitajskih hrčkov z diflubenzuronom in njegovim metabolitom *p*-kloroanilinom. Rezultati vezave na ER so bili negativni pri diflubenzuronu in mešani (pozitivni in negativni) pri njegovem metabolitu [184]. Z uporabo programa ED smo dobili napovedi srednje močnih interakcij z ER α in ER β , (oranžni razred), v primeru ER α (an) pa šibkih interakcij (zeleni/rumeni razred). Podatki iz zbirke PubChem o možnih interakcijah med diflubenzuronom in ER α so si pogosto nasprotni. Program ED je razvrstil interakcije diflubenzurona in GR v rumeni razred, kar se ne ujema s podatki iz baze PubChem.

Nekateri viri zaradi navedenih podatkov diflubenzuron štejejo med potencialne endokrine motilce [138,185,186,187].

- **Flufenacet**

Flufenacet je sintetični širokospektralni tiadiazolni herbicid. Je selektiven in deluje na meristemsko tkivo v rastlinah, kjer inhibira delitev celic [80,188]. V eksperimentih na

laboratorijskih živalih je flufenacet v razmeroma nizkih odmerkih vplival na ravni ščitničnih hormonov ter na številna tkiva in organe [189]. Na podganah so pokazali, da flufenacet posredno vpliva na serumske koncentracije tiroksina (T_4) in na njegov klirens [190]. Tudi naša raziskava je pokazala vpliv na ščitnična receptorja in to na nivoju rumenega razreda. Program ED je napovedal tudi interakcije z AR in ER. Prve je glede na napovedane jakosti interakcij uvrstil v rumeni, medtem ko druge z AR(an) pa v oranžni razred. Interakcije z ER α in ER β je ED opredelil kot šibke (zeleni/rumeni razred). PubChem navaja, da se flufenacet ne veže na ER α in ER α (an). S testiranjem *in silico* smo potrdili tudi interakcije z GR (rumeni razred), kar pa se ne ujema s podatki iz baze PubChem. Ta podaja tudi informacije o interakcijah z receptorji PPAR in GR(an), pri čemer ne predvideva vezav. Ti podatki pa se ujemajo z našimi.

Seznam TEDX potencialnih hormonskih motilcev omenja flufenacet med potencialnimi kandidati za uvrstitev v to skupino spojin [138].

- **Flurokloridon**

Flurokloridon je sintetični selektivni herbicid, ki se absorbira preko korenin in stebela in zavira biosintezo karotenoidov [74,191]. Ena od študij, navedenih v bazi PubChem, potrjuje vezavo te spojine na PPAR γ , druga pa temu nasprotuje. Naši napovedni rezultati so bili negativni pri vseh PPAR. Podatki iz zbirke PubChem so prav tako nasprotujoči glede vezave flurokloridona na AR(an). Program ED je interakcijo med AR(an) in flurokloridonom razvrstil v oranžni razred. Pri podganah flurokloridon v visokih odmerkih zmanjša velikost in težo mod pri potomcih [192]. Naši rezultati nakazujejo interakcije spojine z AR, saj jih je program ED razvrstil v oranžni razred. To pa se ne ujema s podatki iz baze PubChem, kjer navajajo, da flurokloridon ne aktivira teh signalnih poti, poleg tega pa tudi da se ne veže na GR, TR, ER α in ER α (an), medtem ko informacij o njegovih interakcijah z ER β in ER β (an) ni. S programom ED smo napovedali močne interakcije z ER α , GR, TR α in TR β (rumeni razred) in le šibke z ER β (an) (zeleni/rumeni razred). Podobno je program razvrstil tudi interakcije z ER β in ER β (an) (rumeni razred).

Nekateri viri zato uvrščajo flurokloridon med potencialne hormonske motilce [193,194].

- **Permetrin**

Permetrin je sintetični piretroidni insekticid in akaricid, ki deluje na živčne membrane tako, da podaljša aktivacijo natrijevih kanalčkov, kar povzroči paralizo živčnega sistema žuželke [195,196]. Ima antiandrogensko delovanje v pogojih *in vitro* [197,135]. To se ujema z našimi rezultati, saj je program ED interakcijo z AR(an) razvrstil v rumeni razred.

Podatki iz baze PubChem pa prikazujejo, da se permetrin ne veže na ta receptor, kar se ne ujema z rezultati študij *in vitro* in našimi izsledki. S testi *in vivo* so pokazali, da permetrin deluje kot agonist ER [198]. Isti avtorji so naredili še nekaj testov *in vitro* in ugotovili, da piretroidi, torej tudi permetrin, prav tako delujejo kot antagonisti ER [198]. Na modelu mišjih samcev so dokazali, da permetrin, ki je zmes dveh parov enantiomerov, povzroči stereoselektivno endokrino delovanje. Največji endokrini učinek je imel (+)-cis-permetrin, sledila sta mu (-)-cis- in (-)-trans-permetrin, najmanj učinkovit pa je bil (+)-trans-permetrin [199]. Program ED je uvrstil interakcije med permetrinom in ER α in ER α (an) v rumeni razred, kar se ujema z rezultati študij *in vitro* in *in vivo*.

Testi *in vivo* ter *in silico* so dokazali, da permetrin lahko potencialno moti ščitnični endokrini sistem pri ribah [200]. Ti podatki se ujemajo z našimi rezultati, ki napovedujejo vezavo s TR α (rumeni razred) in še močnejšo interakcijo s TR β (oranžni razred).

S študijo na ribah zebričah (*Danio rerio*) so ugotovili, da ima (-)-trans-permetrin največjo estrogensko aktivnost od vseh enantiomerov permetrina [201][202]. S študijo na podganjih samicah, ki so jo izvedli Kim in sodelavci, pa so dokazali, da ima permetrin lahko estrogenske učinke, medtem ko so s testi *in vitro* ugotovili, da ima androgene učinke na podganje samce [203]. Program ED je napovedal tudi njegovo vezavo na GR, LXR α , PPAR γ in RXR α in te interakcije razvrstil v rumeni razred. Tudi za LXR β je napoved podobna (zeleni/rumeni razred). Vse napovedi pa so v nasprotju s podatki iz zbirke PubChem, ki nasprotujejo tudi ugotovitvam vseh zgoraj navedenih študij *in vitro* in *in vivo*.

- **Etofenproks**

Etofenproks je širokospektralni sintetični piretroidni insekticid, ki deluje kontaktno ali preko zaužitja in povzroči motnje v živčnem sistemu žuželk [204]. S testi *in vitro* so pokazali, da ima antiandrogeno delovanje, kar se ujema z našimi izsledki, ki ga razvrščajo v rumeni razred [136]. Z istimi testi so pokazali, da etofenproks deluje tudi antagonistično na TR [136]. Program ED je napovedal, da se ta spojina veže na TR α (zeleni/rumeni razred) in TR β (rumeni razred). Tudi Du in sodelavci so testirali delovanje spojine na ER v pogojih *in vitro* in ugotovili, da etofenproks deluje kot antiestrogen [136]. Njihovi izsledki se ujemajo z našimi, ki možnost vezave spojine z ER α (an) in ER β (an) razvrščajo v zeleni/rumeni razred. Pozitivne napovedi interakcij smo dobili tudi za GR (rumeni razred), LXR α (zeleni/rumeni razred) ter PPAR γ in RXR α (rumeni razred). Nekateri viri zaradi vsega navedenega štejejo etofenproks med potencialne hormonske motilce [121,138,205,206].

- **d-Fenotrin**

Insekticid d-fenotrin je piretroidna sintetična spojina, ki deluje kontaktno ali preko zaužitja. V žuželkah moti delovanje živčnega sistema [207]. V literaturi ga najdemo tudi pod imenom fenotrin. Nekaj študij *in vitro* potrjuje njegovo antiandrogeno delovanje, vendar pa obstajajo tudi podatki, ki temu nasprotujejo [171,208-210]. Naši rezultati napovedujejo vezavo z AR(an), razvrščeno v rumeni razred. Podatkovna baza PTID navaja ER α in AR kot možni tarči d-fenotrina. Naši rezultati pa kažejo, da lahko pride do njegove vezave na ER α , ER α (an) in ER β (rumeni razred), ter na ER β (an) (zeleni/rumeni razred). Podatki iz baze PubChem kažejo, da ne pride do vezav na GR in GR(an), kar se ne ujema z našimi rezultati, saj je program ED vezavo z GR uvrstil v rumeni, z GR(an) pa v zeleni/rumeni razred. V bazi PubChem je tudi navedeno, da PPAR γ , PPAR δ (β) in RXR α niso tarče te spojine, kar se ponovno ne ujema z našimi napovedmi, saj je program ED razvrstil jakosti interakcije z PPAR γ in RXR α v rumeni, z PPAR β pa v zeleni/rumeni razred. Medtem ko so rezultati, ki smo jih dobili za jakost interakcij z AR, skladni s tistimi iz baze PubChem pa se napovedi vezave fenotrina na AR(an) in ER (vse oblike) ne ujemajo. S testiranjem *in silico* smo dobili pozitivne rezultate tudi za interakcije s TR α (rumeni razred) in TR β (oranžni razred). Obstaja tudi nekaj podatkov o vplivu d-fenotrina na ščitnični endokrini sistem, vendar pa ugotovitve niso zanesljive [211,212].

Zaradi vsega navedenega nekateri viri uvrščajo d-fenotrin med hormonske motilce. [74,138,213,214].

- **Bifenil-2-ol**

Bifenil-2-ol je biocidno sredstvo, ki se uporablja kot razkužilo, (Priloga 7 - Vrsta proizvodov 1-4) fungicid in konzervans [80,215]. Je sintetičnega izvora, in deluje širokospektralno ter kontaktno [74,216]. Bifenil-2-ol deluje agonistično na estrogenske receptorje [114,217,218]. Z našimi napovedmi *in silico* nismo potrdili njegove vezave na ER (vse interakcije so bile razvrščene v zeleni razred). Podatki kvantitativnega visoko zmogljivega rešetanja (qHTS) iz zbirke PubChem prav tako ne kažejo na vezavo te spojine na ER receptorje. Podatkovna baza T3DB navaja PPAR α kot potencialno tarčo za bifenil-2-ol [215]. To pa se ne ujema z našimi izsledki, saj je ED interakcijo s PPAR α razvrstil v zeleni razred. Naš rezultat se ujema s podatki v bazi PubChem.

Našli smo študija *in vitro*, ki poroča o antagonističnem delovanju bifenil-2-ola na AR [219]. Ta rezultat se ujema z našimi izsledki, ki napovedujejo večjo verjetnost vezave bifenil-2-ola na AR(an) (oranžni razred). Druga študija *in vitro* je pokazala, da bifenil-2-ol

nima vpliva na TR, kar se ujema s podatki iz baze PubChem, ne pa tudi z našimi rezultati, ki so interakcijo s TR α razvrstili v rumeni in s TR β pa v zeleni/rumeni razred. Prav tako smo dobili pozitiven rezultat napovedi vezave spojine na AR in GR (rumeni razred) ter na LXR α (zeleni/rumeni razred). Podatki iz baze PubChem ne kažejo na možnost vezave na AR, GR in receptorje PPAR. Slednje se ujema z našimi rezultati tesiranja s programom ED, ki je možnost interakcije z receptorji PPAR razvrstil v zeleni razred. Na osnovi omenjenih študij bifenil-2-ol uvrščajo v skupino potencialnih hormonskih motilcev [138,220,221,222].

- **Tetrametrin**

Tetrametrin je močan insekticid, ki pripada družini piretroidov. Je nesistemski insekticid s hitrim kontaktnim delovanjem. Modulira natrijeve kanalčke, kar pomeni, da hiperaktivira živčne celice, s tem pa povzroči paralizo in smrt [74,80,223,224,225]. Skupina raziskovalcev je skušala s testiranjem *in vitro* in *in vivo* potrditi ali zavrniti možnost, da tetrametrin reagira z ER in/ali AR. Z uterotropnimi testi na podganjih samicah so potrdili, da spojina deluje antiestrogensko, medtem ko so s Hershbergerjevim testom *in vivo* pokazali, da ne vpliva na AR [226]. Druga raziskava *in vitro* je pokazala, da tetrametrin ne modulira ER [227]. Leta 2011 so Mnif in sodelavci objavili rezultate študije, v kateri so dokazali, da tetrametrin deluje antiestrogensko le pri ženskah [114]. Naši rezultati *in silico* kažejo, da sodi interakcija spojine z ER α (an) v zeleni, z ER β pa v zeleni/rumeni razred. Z ED smo napovedali tudi šibko agonistično delovanje tetrametrina na ER α (zeleni/rumeni razred). Leta 2010 so izvedli novo študijo *in vitro*, s katero so pokazali, da je tetrametrin močan antagonist TR β [136].

Podatki iz baze PubChem so si bili nasprotujoči, saj so enkrat pokazali vezavo tetrametrina na ER α (an), drugič pa nasprotno. Podobno je bilo tudi v primerih AR(an), ščitničnega hormonskega sistema in PPAR γ . Program ED je vezavo preiskovane spojine na AR, AR(an) in TR α razvrstil v rumeni razred, na TR β v oranžni in PPAR γ pa v zeleni razred. Podatki iz baze PubChem so prikazali negativne rezultate za vezavo tetrametrina na GR in GR(an), kar se ne ujema z našimi izsledki, ki so njegovo vezavo na GR razvrstili v rumeni, na GR(an) pa v zeleni/rumeni razred. V isti podatkovni bazi je tudi podatek, da se tetrametrin ne veže na PPAR δ (β), kar se tudi ne ujema z našimi rezultati - zeleni/rumeni razred. *In silico* smo napovedali tudi šibke interakcije z LXR α in LXR β (zeleni/rumeni razred).

Tetrametrin na osnovi razpoložljivih podatkov uvrščajo med možne ali verjetne hormonske motilce [74,114,121,138,220,224,228].

- **Piriproksifen**

Piriproksifen je insekticid, ki v svoji strukturalni formuli vsebuje piridinski obroč. Je mimetik hormonov še neodraslih insektov in inhibira njihov proces dozorevanja [74,80,229,230].

Neodvisne študije so pokazale, da je piriproksifen mimetik estrogena [164]. Podatki EPA kažejo, da piriproksifen vpliva na ER v pogojih *in vitro*, in da je šibek induktor sinteze estradiola. S testi *in vivo* pa so dokazali negativne rezultate v tem hormonskem sistemu [231]. Naši rezultati se ujemajo z izsledki navedenih študij *in vitro*. Program ED je interakcije z ER α in ER β razvrstil v rumeni, z ER α (an) in ER β (an) pa v zeleni razred. Podatki za vpliv te spojine na androgeni sistem so naslednji: testi *in vivo* (Hershbergerjev test) so bili negativni, študija na mladih podganjih samcih je pokazala antiandrogeni učinek, dodatna študija *in vivo* na sesalcih pa ne. Študija na mladih samcih podgan je pokazala spremembo v metabolizmu testosterona, ki se je povečal ter povečano težo jeter, zaradi česar raziskovalci menijo, da so androgeni učinki piriproksifena sekundarnega izvora. Z raziskavami na ribah so dokazali vpliv te spojine na adrogene poti signaliziranja, testi na pticah pa so bili negativni. Raziskave vezave piriproksifena na AR in steroidogeneze *in vitro* so bili negativni [231]. Naši testi *in silico* so pokazali agonistični in antagonistični učinek, saj je program ED vezavi na AR in AR(an) razvrstil v rumeni razred. Testi vplivov na ščitnični sistem so pokazali le histopatološke spremembe ščitnice ter spremembo njene teže v psicah. Pri preučevanju delovanja piriproksifena na podgane so opazili zmanjšano raven hormona T₄ in histopatološke spremembe ščitnice v odmerkih, ki so bili že toksični. Spremenjen je bil tudi metabolizem ščitničnih hormonov, zato raziskovalci menijo, da je vpliv tega insekticida na ščitnični sistem le sekundaren [231]. Rezultati, ki smo jih dobili mi, pa predpostavljajo srednje močno vezavo piriproksifena na TR, saj je program ED vezavi na TR α in TR β razvrstil v oranžni razred. Zabeležili smo še pozitiven rezultat pri napovedi vezave na GR (rumeni razred). Podrobnih informacij o delovanju piriproksifena na GR v literaturi nismo našli.

Na osnovi navedenih podatkov je v posameznih literaturnih navedbah piriproksifen omenjen kot potencialen hormonski motilec [80,138,164,232].

- **Metkonazol**

Metkonazol je triazolni sistemski fungicid, ki deluje tako, da inhibira biosintezo ergosterola [74,233]. Deluje kot antiandrogen, saj v študijah navajajo, da povzroča spremembo teže endokrinih organov, nadledvične žleze in placentne [164]. Tudi mi smo napovedali njegovo antiandrogeno delovanje, saj je program ED vezavo na AR(an) razvrstil v oranžni razred. Napovedali smo tudi šibko agonistično delovanje na AR (rumeni razred). Leta 2014 je bila v ZDA narejena *in vitro* študija HTS, na osnovi katere so ocenili jakost in učinkovitost estrogenskega agonističnega in antagonističnega učinka določenih kemikalij, med katerimi je bil tudi metkonazol. Ugotovili so, da deluje tako agonistično kot antagonistično [234]. Ti izsledki se ujemajo z našimi saj smo tudi mi napovedali šibko agonistično in antagonistično delovanje - vezave na ER α , ER α (an) in ER β (an) je program ED razvrstil v zeleni/rumeni, na ER β pa v rumeni razred. Naši rezultati se ujemajo tudi s podatki iz baze PubChem, ki prav tako predvidevajo vezavo na AR(an) in ER α (an). V bazi PubChem so prav tako podatki o antagonističnem delovanju metkonazola na TR, pri čemer pa ni navedeno, katera oblika receptorja je vpletena, ter PPAR γ . Ti podatki se le delno ujemajo z našimi, saj je program ED napovedal vezavo na TR α in TR β v okviru zelenega/rumenega, vezavo na PPAR γ pa razvrščena v zelenega razreda. Tudi pri preverjanju vezave na GR (rumeni razred) in GR(an) (zeleni/rumeni razred) smo dobili pozitivne napovedne rezultate.

Na osnovi pregledanih virov in navedenih podatkov trdimo, da so potrebne dodatne raziskave za potrditev endokrinega delovanja metkonazola.

4.2.2 Spojine, za katere nismo našli podatkov o endokrini disrupciji ali pa so naši izsledki v nasprotju s podatki iz literature

Pregledali smo večino spojin za katere nismo našli podatkov o endokrini disrupciji oziroma tiste, za katere so naši rezultati v nasprotju s podatki iz literature. V Preglednici XIII prikazujemo, kateri skupini pesticidov pripada posamezna preiskovana spojina.

Preglednica XIII: Razdelitev spojin iz skupine pesticidov (fitofarmacevtska sredstva in biocidni proizvodi). S črno barvo so izpisane tiste, za katere nismo našli podatkov o endokrini disrupciji (oznaka np pomeni "ni podatkov") oziroma tiste, za katere so bili rezultati napovedi interakcij s programom ED v nasprotju s podatki iz literature (oznaka n/l pomeni "v nasprotju s podatki iz literature").

Fitofarmacevtska sredstva.		Biocidni proizvodi.	
Boskalid	n/l	Kumatetralil	np
Fluopikolid	np	Cinkov pirition	np
Piretrin I	np	Transflutrin	np
Fluopiram	np	Praletrin	np
Tebufenpirad	n/l	Brodifakum	n/l
Diflufenikan	np	Bromadiolon	np
Iprovalikarb	n/l	.Alfa.-ciano-3-fenoksibenzil 2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciklopropankarboksilat	np
Giberelini (A4 in A7):A4	np	Difenakum	np
Giberelini (A4 in A7):A7	np	β -Kariofilen	np
Fenpropimorf	n/l	Germakren	np
Ciflufenamid	np	α – Humulen	np
Famoksadon	np	2,2'-Ditiobis[Nmetilbenzamid]	np
Tienkarbazon	np	Flokumafen	np
Izoksafutol	np		
Fenpropidin	np		
Mezotrion	np		
Fenmedifam	np		
Metaflumizon	np		
Tritosulfuron	np		
Florasulam	n/l		
Kvinoksifen	np		
Beflubutamid	np		

Spojine, ki jih obravnavamo v nadaljevanju, predstavljajo tiste, za katere še ni potrjeno, da so hormonski motilci, čeprav so znane nekatere študije, ki to predvidevajo, vendar pa ne dajejo dovolj zanesljivih podatkov za potrditev. S programom ED smo napovedali možne interakcije z nekaterimi od preučevanih receptorjev, ki bi lahko bili tarče za te spojine.

- **Kumatetralil**

Kumatetralil spada v skupino prve generacije kumarinskih antikoagulantov in deluje tako, da blokira tvorbo protrombina in tako preprečuje koagulacijo krvi, kar povzroči nastanek notranjih krvavitev in s tem smrt [74,235]. Podatkovna baza PubChem podaja nasprotujoče si informacije o njegovih interakcijah z AR(an) in PPAR γ ter podatke o negativnih rezultatih vezave na GR, GR(an), AR, TR, ER α , ER α (an), PPAR δ (β) in RXR. Naši rezultati so precej drugačni od teh in jih predstavljamo v Preglednici XIV.

Preglednica XIV: Rezultati testiranja kumatetralila s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
		+	+++	+++	++	++	+++	+	+	++	+	0/+	+	0	+	++	++
Kumatetralil	Rodenticid	+	+++	+++	++	++	+++	+	+	++	+	0/+	+	0	+	++	++

Drugih podatkov za to spojino, ki bi jo uvrščalo med hormonske motilce, nismo našli.

- **Boskalid**

Boskalid je fungicid, ki inhibira encim sukcinat dehidrogenazo. Absorbira se preko listov in inhibira klitje spor gliv [74,80,236,237]. EPA navaja podatke o študijah *in vivo* na podganjih samcih, ki dokazujejo vpliv boskalida na ščitnico, ki poveča aboslutno in relativno težo ščitnice, povzroči histopatološke spremembe ščitnice ter disrupcijo njene

homeostaze tako, da zmanjša koncentraciji krožečih T₃ in T₄ in zviša koncentracijo TSH. Te spremembe so verjetno posledica indukcije hepatične mikrosomalne glukuroniltransferaze. EPA je zaključila, da indukcija tega jetrnega encima povzroči povečano glukuronidacijo tiroksina in posledično pospešeno izločanje TSH kot kompenzacijski odziv negativnega povratnega odziva, kar povzroči povečanje teže ščitnice [238]. Naši rezultati so napovedali šibko vezavo boskalida na TR α , (zeleni/rumeni razred) in malo močnejšo vezavo na TR β (rumeni razred). PubChem vsebuje podatke o agonističnem učinku na PPAR γ , kar se ujema z našimi izsledki, saj je program ED vezavo na ta receptor razvrstil v zeleni/rumeni razred. Podatki iz baze PubChem kažejo tudi, da ne pride do vezave tega fungicida na ER α (an) in ER α , kar pa se ne ujema z našimi rezultati, saj je program ED interakcijo z ER α razvrstil v rumeni, z ER α (an) v zeleni/rumeni, interakcijo z ER β pa v zeleni/rumeni razred. Napoved močnejše vezave smo dobili v primeru ER β (an) (oranžni razred). Zabeležili smo tudi negativne rezultate za vezavo boskalida na AR, kar se ujema s podatki baze PubChem ter pozitiven rezultat za vezavo na AR(an) (rumeni razred), kar pa je v nasprotju s podatki iz podatkovne baze PubChem. Program ED je možnost interakcije boskalida z GR in GR(an) razvrstil v rumeni razred, kar je nasprotno kot v bazi PubChem, kjer navajajo, da do tovrstnih vezav ne pride. Vezave na LXR α , LXR β in RXR α je program ED razvrstitev v zeleni/rumeni razred, PubChem pa navaja, da ni interakcij z RXR α .

Podatkov za to spojino, na osnovi katerih bi jo uvrstili med hormonske motilce, nismo našli in je tudi sicer ne štejejo v to skupino.

- **Fluopiram**

Fluopiram je širokospektralni piridiletamidni fungicid, ki deluje tako, da inhibira encim sukcinil dehidrogenazo. Deluje pa tudi nematocidno [74,239,240]. Podatkov o njegovem endokrino disruptivnem delovanju nismo našli. Program ED je podal naslednje napovedi vezave te spojine na preučevane receptorje (Preglednica XV).

Preglednica XV: Rezultati testiranja fluopirama s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
		AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Fluopiram	Fungicid	++	+++	+	+	++	++	+	0/+	+	0	0	0	+	+	+	++

Glede na dobljene rezultate priporočamo nadaljne študije za oceno endokrinega učinka fluopirama.

- **Tebufenpirad**

Tebufenpirad je pirazolni akaricid in insekticid, ki deluje kontaktno ali preko zaužitja. Je inhibitor mitohondrijskega elektronskega transporta [74,80,241,242]. Raziskave *in vivo* in *in vitro* o endokrini disrupciji nismo našli. PubChem navaja, da je pri qHTS prišlo do vezave na AR(an), kar se ujema z našimi izsledki, saj je program ED razvrstil napovedano vezavo na ta receptor v oranžni razred. Podatki v PubChem-u kažejo na njegovo antagonistično delovanje na TR in PPAR δ (β), kar se le delno ujema z našimi rezultati, ki možnost interakcije s TR α uvrščajo v zeleni/rumeni, s TR β v rumeni ter s PPAR β v zeleni razred. Vezavi na RXR α in ER α (an) je program ED razvrstil v zeleni razred, kar se ne ujema s podatki iz baze PubChem, ki potrjujejo vezavo na ta dva receptorja. V isti podatkovni bazi smo zasledili tudi podatek, da tebufenpirad ne intereagira z AR in PPAR δ (β) (agonistično delovanje), kar se ujema z našimi napovedmi. Podatkovna baza T3DB navaja, da so AR, ER, TR α , PPAR α in PPAR γ potencialne tarče tebufenpirada. Naši izsledki pa kažejo, da spojina ne intereagira z naslednjimi receptorji: PPAR α , PPAR γ , ER α , ER α (an), ER β (an), ter da lahko modulira delovanje ER β in TR α , ki sta bila glede na napovedano jakost vezave razvrščena v zeleni/rumeni razred. Pozitivne napovedne rezultate smo dobili tudi za vezavo tebufenpirada z GR (rumeni razred).

- **Diflufenikan**

Diflufenikan je selektivni kontaktni herbicid, ki deluje tako, da inhibira fotosintezo in sintezo karotenoidov [186]. Podatkov o njegovem endokrinem disruptivnem delovanju nismo našli, čeprav je Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) potrdila, da obstaja nekaj kazalnikov motenj endokrinega sistema pri velikih odmerkih diflufenikana, vendar pa glede potencialne povezave s sistemsko toksičnostjo (toksičnost, pri kateri se pojavijo znaki na več mestih in ne le na endokrine organe ali tkiva) ni predlagala nobene klasifikacije [243]. Podatkovna baza PubChem navaja, da pri qHTS (kvantitativno visoko zmogljivo rešetanje) ni prišlo do vezave te spojine na GR, GR(an), AR, AR(an), TR, ER α , ER α (an), PPAR γ , PPAR δ (β) in RXR α . Naši rezultati so precej drugačni in so prikazani v Preglednici XVI.

Preglednica XVI: Rezultati testiranja diflufenikan s programom ED.

Spojina	Receptor	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
	Uporaba																
Diflufenikan	Herbicid	+	++	+++	+++	+	+++	+++	+	++	+	0/+	0/+	++	++	+++	+++

Glede na te napovedi priporočamo dodatne študije za oceno učinka diflufenikana na okolje in človeško zdravje.

- **Giberelina A4 in A7**

Giberelina A4 in A7 sta rastlinska hormona, ki uravnavata različne razvojne procese v rastlini, npr: rast, dolžino stebela, cvetenje, itd. Spadata med diterpenoidne kisline. Regulirata sintezo proteinov in stimulirata elongacijo celic [74,244]. V literaturi nismo našli podatkov o njuni morebitni endokrini disrupciji. S programom ED pa smo dobili rezultate, ki so zbrani v Preglednici XVII.

Preglednica XVII: Rezultati testiranja giberelinov A4 in A7 s programom ED.

Spojina	Recep Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	Er β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR λ	RXR α	TR α	TR β
GiberelinA4	Fitoregulat	++	+++	+	0/+	+	0/+	+	0/+	0/+	0/+	0/+	0	0	0	0/+	0/+
GiberelinA7	Fitoregulat	+++	+++	+	0	++	0	+	0/+	+	0/+	0/+	0	0	0	0/+	+

- **Ciflufenamid**

Ciflufenamid je sintetični fungicid, ki deluje preventivno in kurativno tako, da inhibira okužbe [74,245]. Obstaja nekaj podatkov, da deluje na ščitnico podgan in miši, vendar s pojasnilom, da so opažene spremembe koncentracij hormonov T₃, T₄ in TSH posledica povečane presnove v jetrih in zato povečane občutljivosti ščitnic. Zato menijo, da ta mehanizem ni pomemben za ljudi [111]. Naši izsledki so pokazali možen vpliv ciflufenamida na ščitnične hormone, saj je program ED napovedano jakost vezave na TR β uvrstil v rumeni, na TR α pa v zeleni/rumeni razred.

Našli smo tudi podatke iz študij na živalih (glodalci in psi), ki navajajo da ciflufenamid povzroča spremembe na spolnih organih samcev in samic, ki se kažejo predvsem v zmanjšanju teže spolnih organov samcev, hiperplaziji Leydigovih celic in zmanjšani kvaliteti sperme. Prav tako obstajajo podatki o antiandrogenskem delovanju ciflufenamida v živalskih modelih [246]. Naši napovedni rezultati se ujemajo s to trditvijo, saj je program ED vezavo na AR(an) razvrstil v rumeni razred. Ostale rezultate, podrobneje predstavljamo v Preglednici XVIII.

Preglednica XVIII: Rezultati testiranja ciflufenamida s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	Er β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR λ	RXR α	TR α	TR β
Ciflufenamid	Fungicid	0	+	+	+++	+	++	+	+	+	0	0	0/+	++	0/+	0/+	+

Glede na vse navedeno priporočamo nadaljne študije za celovito oceno učinka ciflufenamida na človeško zdravje.

- **Famoksadon**

Famoksadon je oksazolidindionski fungicid, ki deluje protektivno. Uporablja se v kombinaciji s cimoksanilom [80,247]. Podatkovna baza T3DB navaja PPAR α kot njegovo potencialno tarčo, prav tako tudi Evropska Agencija za varnost hrane (EFSA), ki trdi, da famoksadon deluje agonistično na PPAR α (testi *in vivo* na podganah in miših). PubChem tem podatkom nasprotuje in navaja, da spojina ne intereagira s PPAR α , pač pa s PPAR $\delta(\beta)$ in PPAR γ . Rezultati, ki smo jih pridobili z ED, kažejo, da obstaja možnost vezave te spojine na PPAR α (rumeni razred) ter na PPAR β in PPAR γ (oranžni razred). EFSA poroča tudi o spremembah spolnih organov in zmanjšanju njihove teže pri samcih glodalcev ter podaja podatke o antiandrogenskem učinku famoksadona. Podatki iz podatkovne baze PubChem se ujemajo s temi navedbami EFSE. Naši izsledki prav tako napovedujejo šibko vezavo tega fungicida na AR(an) (zeleni/rumeni razred). V podatkovni zbirki PubChem je navedeno, da famoksadon nima agonističnega učinka na AR. To se ujema z našimi rezultati, saj je program ED napovedano vezavo na AR razvrstil v zeleni razred. PubChem nadalje navaja vezavo famoksadona na ER α (an), RXR α , GR(an), TR in PPAR $\delta(\beta)$. Naši izsledki te navedbe potrjujejo, saj je program ED vezavo z ER α (an) razvrstil v rdeči, z RXR α in TR α v rumeni, z GR(an), TR β in PPAR β pa v oranžni razred. Poleg tega smo napovedali še vezavo te spojine na ER α (rumeni razred) ter na ER β (an), GR in LXR β (oranžni razred).

Famoksadon še ni uvrščen med endokrine motilce, čeprav obstaja nekaj raziskav *in vitro* na živalih ter študij *in silico*, ki prikazujejo, da lahko potencialno moti človeški endokrini sistem. To nenazadnje potrjujejo tudi naši rezultati.

- **Izoksaflutol**

Izoksaflutol je izoksazolni herbicid, ki deluje sistemsko. Absorbira se preko korenin in listov [80,248]. EFSA navaja, da izoksaflutol povzroča spremembe v spolnih organih pri samcih podgan in njihovih potomcih ter zmanjšano težo njihovih spolnih organov. Omenjeno je tudi, da povzroča spremembe v spolnih organih samic ter deluje antiandrogensko. Naši izsledki so prav tako pokazali možnost njegove vezave na AR(an) (oranžni razred), kar pa se ne sklada s podatki iz baze PubChem, ki trdijo nasprotno. EFSA poroča tudi o vplivu na homeostazo ščitničnih hormonov pri nosečih samicah glodalcev, pri čemer se zniža serumska koncentracija T₃ in/ali T₄. Nasprotno pa v bazi PubChem navajajo, da niso mogli potrditi vezave izoksaflutola na TR. Program ED je razvrstil napoved vezave na TR α in TR β v rumeni razred, poleg tega pa je predpostavil tudi

možnost vezave na AR (rumeni razred), ER α (zeleni/rumeni razred) in GR (rumeni razred).

- **Fenpropidin**

Fenpropidin je sistemski fungicid, ki deluje kurativno in protektivno. Zavira biosintezo sterola v membranah [74,249]. EFSA navaja, da lahko povzroča spremembe v spolnih organih samcev podgan in njihovih potomcev, zmanjša kvaliteto njihove sperme, pa tudi spremembe spolnih organov samic, zmanjšanje njihove teže ter da ima antiandrogeno delovanje. Naši rezultati prav tako napovedujejo antiandrogeno delovanje fenpropidina, saj je program ED vezavo na AR(an) razvrstil v rumeni razred. Prav tako smo dobili pozitivne rezultate za njegovo vezavo na GR in naTR β (rumeni razred) ter na TR α (oranžni razred). Za fenpropidin v literaturi nismo našli potrditve, da bi bil uvrščen v skupino hormonskih motilcev.

- **Mezotrion**

Mezotrion je selektivni herbicid, ki se absorbira preko korenin. Inhibira encim 4-hidroksifenil-piruvat-dioksidogenazo [74,250]. EFSA navaja podatke o spremembah spolnih organov pri samcih in samicah podgan in poslabšanje spolnost pri omenjenih. Podatki iz baze PubChem prikazujejo pozitivne in negativne rezultate moduliranja RXR α in TR z mezotrionom, medtem ko naj GR, GR(an), PPAR α , PPAR δ (β), PPAR γ , AR, AR(an), ER α in ER α (an) ne bi bile njegove tarče. Naši rezultati se ne ujemajo s temi podatki, saj je program ED napovedal sicer šibko vezavo na AR (zeleni/rumeni razred) in močnejšo vezavo na AR(an) (oranžni razred). Dobili smo tudi pozitivne napovedi za njegovo vezavo na GR (rumeni razred), GR(an) (zeleni/rumeni razred), TR α (zeleni/rumeni razred) in TR β (rumeni razred).

- **Fenmedifam**

Fenmedifam je selektivni sistemski herbicid, ki se absorbira preko listov rastlin in inhibira fotosintezo [74,251]. Podatkovna baza T3DB navaja ER kot tarčo fenmedifama. PubChem prav tako navaja podatke o vezavi na ER α . EFSA navaja, da ta spojina povzroča spremembe moških in ženskih spolnih organov pri podganah, zmanjša težo moških spolnih organov in da deluje antiandrogeno. Naši rezultati, ki smo jih pridobili s programom ED, so zbrani v Preglednici XIX.

Preglednica XIX: Rezultati testiranja fenmedifama s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Fenmedifam	Herbicid	+	+	0/+	0	0/+	0	+	+	0/+	0	0	0	0	0	0/+	++

Drugih podatkov o potencialni endokrini disrupciji za to spojino nismo našli.

• **Metaflumizon**

Metaflumizon je širokospektralni insekticid in spojina, ki se uporablja za veterinarske namene. Deluje tako, da napade živčni sistem žuželk in povzroči njihovo paralizo [74,252]. Podatkov o njegovem endokrinem disrptivnem delovanju nismo našli. Rezultati, ki smo jih pridobili z uporabo programa ED, so zbrani v Preglednici XX.

Preglednica XX: Rezultati testiranja metaflumizona s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Metaflumizon	Insekticid	0	0	+	0/+	0	+	++	+	0	0/+	++	++	++	+	0	0

• **Tritosulfuron**

Tritosulfuron je herbicid, ki spada v skupino sulfonilurej. Deluje tako, da inhibira sintezo aminokislin v rastlinah [74,253]. EFSA navaja podatke o spremembah v moških in ženskih spolnih organih podgan, okvarjeno plodnost pri samicah, zmanjšano kvaliteto sperme pri samcih, o antiandrogenem delovanju te spojine, spremenjeni homeostazi ščitničnih hormonov v nosečih samicah glodalcev in zmanjšani serumski koncentraciji T₃ in/ali T₄. Prav tako uvršča tritosulfuron med spojine, ki povzročajo tumorje, zaradi njihovega endokrinega disruptivnega delovanja [246]. Program ED ne napoveduje vplivov te spojine na TR α , TR β in AR(an). Ostali rezultati, ki smo jih pridobili z uporabo ED, so prikazani v Preglednici XXI.

Preglednica XXI: Rezultati testiranja tritosulfurona s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Tritosulfuron	Herbicid	0	0/+	0/+	0	+	0/+	++	+	0	0	+	0	+	0	0/+	0/+

• **Florasulam**

Florasulam je selektiven herbicid, ki se absorbira preko korenin in poganjkov rastlin in inhibira sintezo aminokislin [74,254]. EFSA navaja, da testi *in vivo* in *in vitro* niso pokazali njegovih motečih učinkov na endokrini sistem [255]. V drugih virih prav tako nismo našli dokazov o povzročni endokrini disrupciji s to spojino. Program ED je za

florasulam podal naslednje napovedi vezave na preučevane receptorje, ki smo jih zbrali v Preglednici XXII in na osnovi katerih predlagamo predvsem njegovo testiranje na AR.

Preglednica XXII: Rezultati testiranja florasulama s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Florasulam	Herbucid	0/+	+++	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+

- **Transflutrin**

Transflutrin je širokospektralni piretroidni insekticid, ki deluje na presinaptične napetostno odvisne natrijeve kanalčke v živčnih membranah žuželk, kar povzroči njihovo oslabelost [74,256]. Podatkov o endokrini disrupciji, ki bi jo morda lahko povzročil, nismo našli. Podatki v bazi PubChem prikazujejo, da ne pride do vezav z GR, GR(an), AR, AR(an), TR, ER α , ER α (an) in PPAR γ . S programom ED pa smo dobili naslednje rezultate: (Preglednici XXIII)

Preglednica XXIII: Rezultati testiranja transflutrina s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Transflutrin	Insekticid	++	++	++	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	++

- **Praletrin**

Praletrin je sintetični piretroidni kontaktni insekticid, ki deluje na živčni sistem žuželk in hitro povzroči njihovo oslabelost [257]. Podatkovna baza T3DB navaja PPAR α in AR kot tarči praletrina. PTID pa navaja ER α kot tarčo učinkovine. V eni izmed študij *in vivo* so opazili povečanje teže ščitnic podgan [258]. Podrobnejših podatkov o možnem delovanju te spojine na endokrini sistem nismo našli. Naši rezultati *in silico* so napovedali vpliv praletrina na TR α in TR β (rumeni razred), GR (rumeni razred), AR in ER α (zeleni/rumeni razred) ter AR(an) (oranžni razred).

- **Bromadiolon**

Bromadiolon je močan antikoagulant in rodenticid. Je predstavnik kumarinov 2. Generacije in se akumulira v jetrih zastrupljenega organizma [80,259]. Podatkovna baza PubChem navaja, da ta spojina vpliva na GR(an) in TR, medtem ko so podatki o vezavi na PPAR γ in PPAR δ (β) tako pozitivni kot negativni. O negativnih rezultatih poročajo tudi pri interakciji bromadiolona z AR, AR(an), ER α , ER α (an), PPAR α , PPAR γ in PPAR δ (β). Podrobnejših podatkov o njegovem morebitnem endokrinem disruptivnem delovanju nismo našli. Naši

rezultati so zbrani v Preglednici XXIV med njimi pa izstopajo predvsem možne interakcije spojine z GR.

Preglednica XXIV: Rezultati testiranja bromadiolona s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Bromadiolon	Rodenticid	0	0	+	++	0	+	+	+++	++	+	++	+	++	0	0/+	+

- **Alfa-ciano-3-fenoksibenzil-2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciklopropankarboksilat ali cifenotrin**

Alfa-ciano-3-fenoksibenzil-2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciklopropankarboksilat ali cifenotrin je sintetični piretroidni nesistemski insekticid s kontaktnim delovanjem. Modulira aktivnost natrijevih kanalčkov in s tem povzroči škodo v živčnem sistemu žuželke [74,260]. PubChem ne navaja podatkov o pozitivnih rezultatih njegove vezave na jedrne receptorje, medtem ko podatkovna zbirka PPDB uvršča cifenotrin med možne endokrine motilce, vendar pa njegov tovrstni status še ni potrjen. Podrobnejših podatkov o njegovem endokrinem disruptivnem delovanju v literaturi nismo zasledili. S programom ED smo napovedali možne interakcije te spojine z jedrnimi receptorji, rezultati pa so predstavljeni v Preglednici XXV.

Preglednica XXV: Rezultati testiranja alfa-ciano-3-fenoksibenzil-2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciklopropankarboksilata s programom ED.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Cifenotrin	Insekticid	0	+	+	0/+	0	0	+	+	+	+	0	0	++	++	+	+

- **Kvinoksifen**

Kvinoksifen je kinolinski sistemski fungicid, ki deluje protektivno tako, da inhibira razvoj apresorijev in s tem prepreči okužbo rastlin [80,261]. Podatkovna baza PubChem poroča o vezavi kvinoksifena na RXR α in PPAR γ , kar pa se ne ujema z našimi izsledki, saj je program ED vezavo spojine ta receptorja razvrstil v zeleni razred. Podatki iz podatkovne zbirke PubChem govore o tem, da ne pride do vezav te spojine na GR, GR(an), TR β , AR, PPAR α , PPAR δ (β), ter ER α in ER α (an). Za preučevanje vezave kvinoksifena na AR(an) so izvedili dva različna testa in dobili nasprotno si rezultate. S programom ED smo napovedali predvsem možnosti interakcij te spojine z AR, ER in TR, rezultati pa so podrobneje predstavljeni v Preglednici XXVI.

Preglednica XXVI: Rezultati testiranja kvinoksifena s programom ED.

Spojina	Receptor	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
	Uporaba																
Kvinoksifen	Fungicid	++	++	++	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	++	+

Vidimo, da so naši rezultati precej drugačni od tistih, navedenih v bazi PubChem.

EFSA poroča podatke o antiandrogenskem delovanju kvinoksifena, kar se ujema z našimi izsledki, podatkovna zbirka T3DB pa navaja PPAR α in PPAR γ kot potencialni tarči spojine, kar se ne ujema z našimi rezultati, je program ED možnost vezave na ta receptor razvrstil v zeleni razred. EFSA navaja tudi podatke o spremembah v spolnih organih samcev in zmanjšanju njihove teže, atrofiji spolnih organov, zmanjšanju kvalitete sperme, učinkih na plodnost samic v pogojih *in vitro* in/ali učinkih na njihove reproduktivne organe v pogojih *in vivo* ter učinku na reproduktivni sistem samcev, prav tako v pogojih *in vivo*, kar bi lahko bilo povezano z delovanjem kvinoksifena na AR in ER. To potrjujejo tudi naše napovedi pridobljene s programom ED. Omenjeni testi *in vitro* in *in vivo* so bili izvedeni na glodalcih. Seznam TEDX navaja kvinoksifen med potencialnimi hormonskimi motilci.

- **Beflubutamid**

Beflubutamid je sintetični herbicid, ki deluje tako, da inhibira biosintezo karotenoidov [74,262]. EFSA navaja, da je deluje toksično na ščitnico, saj povzroča spremembo homeostaze ščitničnih hormonov in da izkazuje antiandrogenske učinke. To se ujema z našimi rezultati, kjer je program ED njegovo vezavo na AR(an) umestil v oranžni razred, vezavo na TR α in TR β pa prav tako v oranžni razred. EFSA poleg tega podaja podatke o spremembah v moških spolnih organih glodalcev, atrofiji omenjenih organov in zmanjšanju njihove teže ter o oslABLJENI plodnosti samc. Drugih podatkov o endokrinem disruptivnem delovanju nismo našli. Napovedi možnih interakcij z jedrnimi receptorji, ki jih je podal program ED, so predstavljeni v Preglednici XXVII.

Preglednica XXVII: Rezultati testiranja beflubutamida s programom ED.

Spojina	Receptor	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
	Uporaba																
Beflubutamid	Herbicid	+	++	+++	+	++	+++	+	0/+	0/+	0	0/+	0/+	++	+	++	++

Glede na podatke, ki jih navaja EFSA, in na podlagi naših rezultatov bi morali izvesti dodatne študije za oceno učinka beflubutamida na človeško zdravje ter potrditev njegove uvrstitve med hormonske motilce.

- **β -Kariofilen, germakren in α -humulen**

β -Kariofilen, germakren in α -humulen so spojine, ki se nahajajo v olju sivke. To se uporablja kot sredstvo za nadzor škodljivih organizmov, in sicer tudi v obliki sredstev za higieno ljudi ali živali, ki se nanašajo neposredno na kožo ali pa pridemo z njimi v stik posredno, saj je nahajajo v človeškem ali živalskem okolju.

Podatkov o njihovem endokrinem disruptivnem delovanju nismo dobili, vendar pa se nam zdi pomembno poudariti, da se olje sivke lahko uporablja neposredno na človeški koži. Glede na pridobljene rezultate, ki so natančneje predstavljene v Prilogi 8, predlagamo izvedbo dodatnih študij za celovito ocenitev učinka sestavin omenjenega eteričnega olja na človeško zdravje. Program ED je vse tri spojine glede na napoved njihove vezave na AR(an) razvrstil v oranžni razred. Rezultati testiranja omenjenih spojin *in silico* se nahajajo v Preglednici XXXII (Priloga 8).

Menimo, da vse tiste spojine, katerih jakost vezave na vsaj enega od preučevanih jedrnih receptorjev je program razvrstil rdeči razred, predstavljajo tveganje za zdravje ljudi, zato predlagamo, da bi jih morali, ker zanje še ni podatkov v literaturi, čimprej preizkusiti v testih *in vitro* (Preglednica XXVIII):

Preglednica XXVIII: Spojine, za katere še ni podatkov v literaturi in za katere je program napovedal pozitiven rezultat vezave (+++) na vsaj en receptor.

Spojina	Receptor Uporaba	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β
Beflubutamid	Herbicid	+	++	+++	+	++	+++	+	0/+	0/+	0	0/+	0/+	++	+	++	++
Kvinoksifen	Fungicid	++	++	++	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	++	+
Bromadiolon	Rodenticid	0	0	+	++	0	+	+	+++	++	+	++	+	++	0	0/+	+
Florasulam	Herbicid	0/+	+++	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+
Famoksadon	Fungicid	0	0/+	+	+++	0	++	++	+	++	++	+	++	++	++	+	++
Ciflufenamid	Fungicid	0	+	+	+++	+	++	+	+	+	0	0	0/+	++	0/+	0/+	+
Giberelin A4	Fitoregulat	++	+++	+	0/+	+	0/+	+	0/+	0/+	0/+	0/+	0	0	0	0/+	0/+
Giberelin A7	Fitoregulat	+++	+++	+	0	++	0	+	0/+	+	0/+	0/+	0	0	0	0/+	+
Diffufenikan	Herbicid	+	++	+++	+++	+	+++	+++	+	++	+	0/+	0/+	++	++	+++	+++
Fluopiram	Fungicid	++	+++	+	+	++	++	+	0/+	+	0	0	0	+	+	+	++
Kumatetralil	Rodenticid	+	+++	+++	++	++	+++	+	+	++	+	0/+	+	0	+	++	++

4.3 VREDNOTENJE REZULTATOV PRIDOBLENIH S POMOČJO PROGRAMA ENDOCRINE DISRUPTOME (ED)

Napovednost programa ED smo ocenjevali s pomočjo t.i. Cooperjeve statistike ter naše rezultate primerjali s tistimi, pridobljenimi s pomočjo testov *in vitro* in *in vivo* (poročila iz dostopne literature).

Cooper-jeva statistika izraža uspešnost izbranega klasifikacijskega modela na podlagi:

- njegove sposobnosti zaznavanja aktivne spojine (občutljivost),
- njegove sposobnosti zaznavanja neaktivne spojine (specifičnost),
- njegove sposobnosti pravilnega razvrščanja obeh razredov spojin,
- napačne pozitivne in napačne negativne stopnje, ki ju lahko izračunamo s pomočjo specifičnosti in občutljivosti.

Pozitivna napovedna vrednost je verjetnost, da je preučevana aktivna spojina zares aktivna, medtem ko negativna napovedna vrednost podaja verjetnost, da je preučevana neaktivna spojina dejansko negativna [98].

Uspešnost našega modela *in silico* predstavljamo v Preglednici XXIX.

Preglednica XXIX: Prikaz načina ugotavljanja uspešnosti modela [99].

Znani razred	Napovedni razred.			Seštevki
	Aktivne spojine	Aktivne spojine	Neaktivne spojine	
	Aktivne spojine	a(66)	b(10)	a+b
	Neaktivne spjine	c(32)	d(6)	c+d
	Seštevki	a+c	b+d	a+b+c+d

Ocenjevanje našega izbranega modela *in silico* s pomočjo Cooperjeve statistike je prikazano Preglednici XXX.

Preglednica XXX: Določanje napovedne občutljivosti, specifičnosti in točnosti programa ED na osnovi rezultatov testiranih spojin [99].

	Definicija: razmerje (ali odstotek):	Formula:	Rezultat:
Občutljivost	aktivnih kemikalij (snovi, ki eksperimentalno dajejo pozitivne rezultate in so v literaturi napovedane kot aktivne);	$a/(a+b)$	86,8%
Specifičnost	neaktivnih kemikalij (snovi, ki eksperimentalno dajejo negativne rezultate in so v literaturi napovedane kot neaktivne);	$d/(c+d)$	15,8%
Točnost	kemikalij, ki so pravilno klasificirane;	$(a+d)/(a+b+c+d)$	63,2%
Pozitivna napovedna vrednost	napovedanih aktivnih kemikalij, ki eksperimentalno dajejo pozitivne rezultate;	$a/(a+c)$	67,3%
Negativna napovedna vrednost	napovedanih neaktivnih kemikalij, ki eksperimentalno dajejo negativne rezultate;	$d/(b+d)$	37,5%
Lažno pozitivna vrednost	neaktivnih kemikalij, ki so lažno napovedane kot aktivne;	$c/(c+d)=1-$ specifičnost	84,2%
Lažno negativna vrednost	aktivnih kemikalij, ki so lažno napovedane kot neaktivne.	$b/(a+b)=1-$ občutljivost	13,2%

Pri računanju napovednosti programa smo uporabili podatke iz študij *in vitro* in *in vivo*. Podatke drugih testiranj *in silico* (PubChem) ter iz podatkovnih baz PTID in T3DB pa nismo upoštevali, saj njihova točnost ni potrjena.

Za izračun smo torej uporabili rezultate testiranj spojin iz Preglednic XXXII in XXXIII, ki se nahajajo v Prilogah 8 in 9.

Program ED je v 86,8% pravilno opredeli spojine, ki so dejansko aktivne, saj eksperimentalno dajejo pozitivne rezultate. Pri tem nismo upoštevali spojin, za katere v literaturi še ni podatkov o njihovi endokrini disrupciji in tiste, ki jih program ni mogel testirati zaradi različnih razlogov, predvsem omejitev glede strukture spojin, npr. soli in hidroksidov. Specifičnost programa ED je bila 15,8%, kar predstavlja delež pravilno opredeljenih neaktivnih spojin. Za veliko število spojin je program podal pozitivne rezultate, čeprav so v literaturi označene kot neaktivne.

Zavedati se moramo, da je v literaturi veliko spojin, ki še vedno nimajo statusa hormonskih motilcev, čeprav so na voljo rezultati testi *in vitro*, ki kažejo njihov vpliv na endokrini sistem v živalskih modelih. Take spojine terjajo dodatne študije. Točnost programa ED je bila 63,2%. Ta rezultat je odvisen tako od števila kot tudi izbora preučevanih spojin. Program namreč poda napoved vezave le za dano strukturo, pri čemer ne upošteva farmakokinetičnih parametrov. Podatki iz zbirke PubChem se ujemajo z našimi rezultati v 38,8%. Pri tem moramo upoštevati, da PubChem opozarja, da je potrebna previdnost pri razlagi rezultatov, saj lahko pride do pomot zaradi morebitnih nespecifičnih učinkov obravnavanih spojin.

5 ZAKLJUČEK

S programom Endocrine disruptome (ED) smo skušali oceniti verjetnost/možnost interakcij z različnimi jedrnimi receptorji za 458 spojin, in sicer 264 fitofarmaceutskih sredstev in 194 biocidnih proizvodov, pri čemer:

- 52 spojin zaradi različnih tehničnih razlogov program ni mogel testirati;
- je 33 spojin pokazalo negativne rezultate (napoved vezave na jedrne receptorje razvrščeno v zeleni razred, kar pomeni, da je le-ta malo verjetna);
- je 300 spojin pokazalo pozitivne rezultate (napoved vezave na jedrne receptorje razvrščena bodisi v rumeni, oranžni in rdeči razred, kar pomeni da obstaja možnost zanjo).

Med 300 spojinami, za katere smo dobili pozitiven napovedni rezultat, je program ED za 60 predvidel možnost vezave v okviru oranžnega in rdečega razreda na vsaj en receptor (to pomeni srednjo oziroma visoko jakost interakcij). Med temi 60 spojinami:

- jih ima 25 v literaturi status potrjenega ali domnevnega hormonskega motilca – zanje naši rezultati predvidevajo največ interakcij z AR(an), ki mu sledijo TR β , ER α in na koncu AR;
- za 35 spojin v literaturi ni podatkov o njihovem endokrinem disruptivnem delovanju - pri teh je program ED najpogosteje napovedal interakcije z AR(an), nato z ER β (an), PPAR γ , TR β in LXR α .

Za 41 aktivnih in neaktivnih spojin je program ED napovedal rezultate, ki so v nasprotju s podatki iz literature. Za 235 aktivnih in neaktivnih spojin pa ne obstajajo eksperimentalni podatki, s katerimi bi lahko primerjali naše izsledke.

Za določanje napovednosti programa ED smo uporabili Cooperjevo statistiko in ugotovili, da je pravilno opredelil 86,6% spojin, ki so dejansko aktivne, oz. dajejo pozitivne eksperimentalne rezultate. Po drugi strani pa je pravilno opredelil le 15,8% spojin, ki naj bi bile neaktivne oz. imajo negativne eksperimentalne rezultate. Vzrok za to je verjetno premajhen nabor preiskovanih neaktivnih spojin. Točnost napovedi programa ED je bila 63,2%.

Za 35 učinkovin, za katere ni podatkov v literaturi, smo z našim testom *in silico* določili veliko verjetnost vezave na jedrne receptorje, zato priporočamo njihovo nadaljnje testiranje za potrditev ali zavrnitev njihovega tovrstnega delovanja.

Glede na dobljene rezultate in njihovo statistično obravnavo lahko potrdimo obe hipotezi, ki smo si ju zastavili v magistrski nalogi ter zaključimo, da je program Endocrine disruptome koristno orodje za napoved vpliva spojin na endokrini sistem živih bitij.

6 REFERENCE

1. McQueen C: *Comprehensive Toxicology 2nd ed*, Elsevier, 2010: 3
2. McQueen C: *Comprehensive Toxicology 2nd ed*, Elsevier, 2010: 1051
3. McQueen C: *Comprehensive Toxicology 2nd ed*, Elsevier, 2010: 5190
4. Guyton, Hall: *Textbook of Medical Physiology, 11th ed*, Elsevier, 2006: 905
5. Zhang JM, An J: *Cytokines, Inflammation and Pain*. *International anesthesiology clinics* 2007; 45 (2): 27-37
6. Guyton, Hall: *Textbook of Medical Physiology, 11th ed*, Elsevier, 2006: 909
7. Widmaier EP, Raff H, Strang KT: *Vander et al's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function, 9th Ed*, The McGraw–Hill Companies, 2003: 341
8. Widmaier EP, Raff H, Strang KT: *Vander et al's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function, 9th Ed*, The McGraw–Hill Companies, 2003: 342-343
9. Widmaier EP, Raff H, Strang KT: *Vander et al's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function, 9th Ed*, The McGraw–Hill Companies, 2003: 343
10. McQueen C: *Comprehensive Toxicology 2nd ed*, Elsevier, 2010: 817
11. McQueen C: *Comprehensive Toxicology 2nd ed*, Elsevier, 2010: 5341
12. Bergman A, Heindel JJ, Jobling S, Kidd KA, Zoeller RT: *State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals*, WHO, World Health Organisation; UNEP, United Nation Environment Programme, 2010: x
13. Bergman A, Heindel JJ, Jobling S, Kidd KA, Zoeller RT: *State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals*, WHO, World Health Organisation; UNEP, United Nation Environment Programme, 2010: xvi
14. Frye CA, Bo E, Calamandrei G, Calza L, Dessì-Fulgheri F, Fernandez M, Fusani L, Kah O, Kajta M, Le Page Y, Patisaul HB, Venerosi A, Wojtowicz AK, Panzica AK: *Endocrine Disrupters: A Review of Some Sources, Effects, and Mechanisms of Actions on Behaviour and Neuroendocrine Systems*. *Journal of Neuroendocrinology: From Molecular to Translational Neurobiology* 2012; 24 (1): 144–159.
15. Bergera E, Potouridis T, Haegerc A, Püttmannb W, Wagnera M: *Effect-Directed Identification of Endocrine Disruptors in Plastic Baby Teethers*. *Journal of Applied Toxycology* 2015; 35 (11): 1254-61

16. Lopez J: Endocrine-Disrupting Chemical Pollution: *Why The EPA Should Regulate These Chemicals Under The Clean Water Act*. Sustainable Development Law & Policy 2010; 10 (3): 19-22, 48-49
17. Alavanja MCR: *Pesticides Use and Exposure Extensive Worldwide*. Reviews on environmental health 2009; 24 (4): 303-309.
18. <http://www.arso.gov.si/varstvo%20okolja/poro%C4%8Dila/poro%C4%8Dila%20o%20stanju%20okolja%20v%20Sloveniji/zdravje.pdf>; str2, **dostopno 23.06.2016**
19. http://www.mkgp.gov.si/si/delovna_podrocja/kmetijstvo/ekolosko_kmetovanje/ **dostopno 23.06.2016**
20. http://www.mkgp.gov.si/si/delovna_podrocja/kmetijstvo/integrirana_pridelava/ **dostopno 23.06.2016**
21. <http://www.ecpa.eu/news/industry-responds-eu-public-consultation-endocrine-disruptors> **dostopno 23.06.2016**
22. Aleksander j, Benford D, Chaudhry Q et al.: *Scientific Opinion on the hazard assessment of endocrine disruptors: scientific criteria for identification of endocrine disruptors and appropriateness of existing test methods for assessing effects mediated by these substances on human health and the environment*. EFSA Journal 2013; 11 (3): 3132.
23. Mnif W, Hassine AIH, Bouaziz A, Bartegi A, Thomas O, Roig B: *Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review*. International Journal of Environmental Research and Public Health 2011; 8 (6): 2265-2303.
24. McQueen C: *Comprehensive Toxicology 2nd ed*, Elsevier, 2010: 530
25. <http://slideplayer.com/slide/9483357/> **dostopno 23.06.2016**
26. Robinson-Rechavi M, Garcia HE, Laudet V: *The nuclear receptor superfamily*. *Journal of Cell Science*, 2003; 116: 585-586
27. Gao W, Bohl CE, Dalton JT: *Chemistry and Structural Biology of Androgen Receptor*. Chemical reviews 2005; 105 (9): 3352-3370.
28. Aranda A, Pascual A: *Nuclear Hormone Receptors and Gene Expression*. Physiological Reviews 2001; 81 (3): 1269-1304
29. Germain P, Staels B, Dacquet C, Spedding M, and Laudet V: *Overview of Nomenclature of Nuclear Receptors*. Pharmacological Reviews 2006; 58 (4): 685–704

30. Matsumoto T, Sakari M, Okada M, Yokoyama A, Takahashi S, Kouzmenko A, Kato S: *The androgen receptor in health and disease*. Annual Review of Physiology 2013; 75: 201-24
31. Luccio-Camelo DC, Prins GS: *Disruption of Androgen Receptor Signaling in Males by Environmental Chemicals*. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology 2011; 127 (1-2): 74-82
32. Russell DW, Mangelsdorf DJ: *Nuclear Receptors*, Elsevier Academic Press, 2003: 48
33. Burris TP, Solt LA, Wang Y, Crumbley C, Banerjee S, Griffett K, Lundasen T, Hughes T, Kojetin DJ: *Nuclear Receptors and Their Selective Pharmacologic Modulators*. Pharmacological Reviews 2013; 65: 710–778
34. Shanle EK, Xu W: *Endocrine disrupting chemicals targeting estrogen receptor signaling: identification and mechanisms of action*. Chemical Research in Toxicology 2011; 24 (1): 6–19
35. Charmandari E, Kino T, Chrousos GP: *Glucocorticoids and Their Actions: An Introduction*. Annals of the New York Academy of Sciences 2004; 1024: 1–8
36. Kadmiel M, Cidlowski JA: *Glucocorticoid receptor signaling in health and disease*. Trends in Pharmacological Sciences 2013; 34 (9): 518–530.
37. Weger BD, Weger M, Nusser M, Brenner-Weiss G, Dickmeis T: *A Chemical Screening System for Glucocorticoid Stress Hormone Signaling in an Intact Vertebrate*. ACS Chemical Biology 2012; 7: 1178–1183
38. Rogarsky I, Hittelman AB, Pearce D, Garabedian MJ: *Distinct Glucocorticoid Receptor Transcriptional Regulatory Surfaces Mediate the Cytotoxic and Cytostatic Effects of Glucocorticoids*. Molecular and Cellular Biology 1999; 19 (7): 5036-49
39. Odermatt A, Gumy C: *Disruption of Glucocorticoid and Mineralocorticoid Receptor-Mediated Responses by Environmental Chemicals*. International Journal for Chemistry 2008; 62 (5): 335–339
40. Neel BA, Brady MJ, Sargis RM: *The Endocrine Disrupting Chemical Tolyfluanid Alters Adipocyte Metabolism via Glucocorticoid Receptor Activation*. Molecular Endocrinology 2013; 27: 394 – 406
41. Yen PM: *Physiological and Molecular Basis of Thyroid Hormone Action*. Physiological Reviews 2001; 81: 1097–1142

42. Baniahmad A: *Thyroid Hormone Receptors: Methods and Protocols*, Humana Press, 2002: 152
43. Damstra T, Barlow S, Bergman A, Kavlock R, Van Der Kraak G: *International Programme on Chemical Safety: Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors*; World Health Organization, 2002; Chapter 5: 86
44. Pongratz I, Bergander L, Marrs T, Anderson D, Waters MD: *Issues in Toxicology: Hormone-Disruptive Chemical Contaminants in Food, 11th ed*, Royal Society of Chemistry, 2012: 19
45. Derelanko MJ, Auletta CS: *Handbook of Toxicology, 3rd ed*, CRC Press-Taylor & Francis Group, 2014: 474
46. Pongratz I, Bergander L, Marrs T, Anderson D, Waters MD: *Issues in Toxicology: Hormone-Disruptive Chemical Contaminants in Food, 11th ed*, Royal Society of Chemistry, 2012: 45
47. Pongratz I, Bergander L, Marrs T, Anderson D, Waters MD: *Issues in Toxicology: Hormone-Disruptive Chemical Contaminants in Food, 11th ed*, Royal Society of Chemistry, 2012: 72-73
48. Pongratz I, Bergander L, Marrs T, Anderson D, Waters MD: *Issues in Toxicology: Hormone-Disruptive Chemical Contaminants in Food, 11th ed*, Royal Society of Chemistry, 2012: 215
49. Nacionalni Akcijski Program za Doseganje Trajnostne Rabe Fitofarmacevtskih Sredstev za Obdobje 2012-2022; Vlada Republike Slovenije; 2012; str 6
50. http://www.uvhvvr.gov.si/si/delovna_podrocja/fitofarmacevtska_sredstva/
dostopno 23.06.2016
51. Nacionalni Akcijski Program za Doseganje Trajnostne Rabe Fitofarmacevtskih Sredstev za Obdobje 2012-2022; Vlada Republike Slovenije; 2012; str 4-6
52. Nacionalni Akcijski Program za Doseganje Trajnostne Rabe Fitofarmacevtskih Sredstev za Obdobje 2012-2022; Vlada Republike Slovenije; 2012; str 10-11
53. Urek G, Bolčič Tavčar M, Fras R, Jejčič V, Per M, Persolja J, Šarc L, Urbančič Zemljič M, Žerjav M: *Temeljna Načela Dobre Kmetijske Prakse Varstva Rastlin in Varne Rabe Fitofarmacevtskih Sredstev*; Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Uprava za varno hrano veterinarstvo in varstvo rastlin, Sektor za fitofarmacevtska sredstva, Kmetijski inštitut Slovenije; Ljubljana, maj 2013: 75

54. Pavlič Čuk M: *Biocidni Proizvodi*; Strokovno Srečanje Svetovalcev za Kemikalije, 20.05.2015, Republika Slovenija, Ministerstvo za Zdravje, Urad Republike Slovenije za Kemikalije
55. http://ec.europa.eu/health/biocides/policy/index_en.htm dostopno 23.06.2016
56. http://ec.europa.eu/health/biocides/biocidal_products/index_en.htm **dostopno 23.06.2016**
57. <http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/> **dostopno 23.06.2016**
58. http://www.uk.gov.si/si/delovna_podrocja/biocidni_proizvodi/register_biocidnih_proizvodov **dostopno 23.06.2016**
59. McConathy J, Owens MJ. *Stereochemistry in Drug Action*. Primary Care Companion to The Journal of Clinical Psychiatry. 2003;5(2):70-73.
60. McQueen C: *Comprehensive Toxicology 2nd ed*, Elsevier, 2010: 209
61. Jang Y, Kim JE, Jeong SH, Cho MH: *Towards a Strategic Approaches in Alternative Tests for Pesticide Safety*. Toxicology Research 2014; 30 (3): 159–168.
62. Bock G, Goode JA: *'In Silico' Simulation of Biological Processes*, Novartis Foundation Symposium, 2002: 223
63. Mukesh B, Rakesh K: *Molekular Docking: A Review*. International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy 2011; 2 (6) 1746-1751
64. Kolšek K, Mavri J, Sollner Dolenc M, Gobec S, Turk S: *Endocrine disruptome - an open source prediction tool for assessing endocrine disruption potential through nuclear receptor binding*. Journal of chemical information and modeling 2014, 54 (4) 1254-1267 (<http://endocrinedisruptome.ki.si/> **dostopno 23.06.2016**)
65. Kolšek K, Mavri J, Sollner Dolenc M, Gobec S, Turk S: *Endocrine disruptome - an open source prediction tool for assessing endocrine disruption potential through nuclear receptor binding*. Journal of chemical information and modeling 2014, 54 (4) 1254-1267
66. <http://www.ics.uci.edu/~dock/manuals/DaylightTheoryManual/theory.smarts.html> **dostopno 23.06.2016**
67. Anderson E, Veith GD, Weininger D: *SMILES: A Line Notation and Computerized Interpreter for Chemical Structures*. Research and Development, 1987; EPA/600/M-87/021
68. <http://endocrinedisruptome.ki.si/prediction.html> **dostopno 23.06.2016**
69. <http://endocrinedisruptome.ki.si/docking/iomgfoznko/> **dostopno 23.06.2016**

70. <http://www.chemspider.com/AboutUs.aspx> **dostopno 23.06.2016**
71. Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, Han L, He J, He S, Shoemaker BA, Wang J, Yu B, Zhang J, Bryant SH: *PubChem Substance and Compound databases*. Nucleic Acids Research: Oxford Journals 2016; 44 (1): 1202-13
72. Wang Y, Suzek T, Zhang J, Wang J, He S, Cheng T, Shoemaker BA, Gindulyte A, Bryant SH: *PubChem BioAssay: 2014 update*. Nucleic Acids Research: Oxford Journals 2014; 42 (1): 1075-82
73. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/help.html#PubChem_Overview **dostopno 23.06.2016**
74. Lewis, KA, Tzilivakis J, Warner D, Green A: *An international database for pesticide risk assessments and management*. Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal 2016; 22 (4): 1050-1064
75. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm> **dostopno 23.06.2016**
76. <http://www.cas.org/content/chemical-substances/faqs#q2> **dostopno 23.06.2016**
77. Gong J, Liu X, Cao X, Diao Y, Gao D, Li H, Qian X: *PTID: an integrated web resource and computational tool for agrochemical discovery*. Bioinformatics 2013; 29 (2): 292-294
78. <http://lilab.ecust.edu.cn/ptid/about.html> **dostopno 23.06.2016**
79. <http://lilab.ecust.edu.cn/ptid/search/text.html> **dostopno 23.06.2016**
80. Wishart D, Arndt D, Pon A, Sajed T, Guo AC, Djoumbou Y, Knox C, Wilson M, Liang Y, Grant J, Liu Y, Goldansaz SA, Rappaport SM: *T3DB: the toxic exposome database*. Nucleic Acids Research: Oxford Journals 2015; 43(Database issue): D928-34.
81. Lim E, Pon A, Djoumbou Y, Knox C, Shrivastava S, Guo AC, Neveu V, Wishart DS. *T3DB: a comprehensively annotated database of common toxins and their targets*. Nucleic Acids Research: Oxford Journals 2010; 38(Database issue): D781-6
82. <http://www.t3db.ca/about> **dostopno 23.06.2016**
83. Irwin JJ, Shoichet BB: *ZINC-a free database of commercially available compounds for virtual screening*. Journal of Chemical Information and Modeling 2005; 45 (1): 177-82
84. <http://zinc.docking.org/> **dostopno 23. 06. 2016**
85. Hastings J, de Matos P, Dekker A, Ennis M, Harsha B, Kale N, Muthukrishnan V, Owen G, Turner S, Williams M, Steinbeck C: *The ChEBI reference database and ontology for biologically relevant chemistry: enhancements for 2013*. Nucleic Acids Research: Oxford Journals 2013; 41(Database issue):D456-63

86. <http://www.ebi.ac.uk/chebi/aboutChebiForward.do> **dostopno 23.06.2016**
87. <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidlite.jsp> **dostopno 23.06.2016**
88. <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/jsp/chemidheavy/help.jsp#SingleResultFull>
dostopno 23.06.2016
89. Gaulton A, Bellis LJ, Bento AP, Chambers J, Davies M, Hersey A, Light Y, McGlinchey S, Michalovich D, Al-Lazikani B, Overington JP: *ChEMBL: a large-scale bioactivity database for drug discovery*. Nucleic Acids Research: Oxford Journals; 2012 40(Database issue): D1100–D1107
90. Chen JH, Linstead E, Swamidass SJ, Wang D, Baldi P: *ChemDB update-full-text search and virtual chemical space*. Bioinformatics 2007; 23: 2348-2351
91. <http://www.chemcd.com/about/aboutUs.html> **dostopno 23.06.2016**
92. <http://www.chemicalize.org/about.php> **dostopno 23.06.2016**
93. <http://actor.epa.gov/actor/faces/ACToRHome.jsp> **dostopno 23.06.2016**
94. Wishart DS, Tzur D, Knox C, et al.: *HMDB: the Human Metabolome Database*. Nucleic Acids Research: Oxford Journals 2007; 35 (Database issue): D521-6.
95. http://bioinf-apache.charite.de/supertarget_v2/index.php?site=about **dostopno 23.06.2016**
96. <http://bioinformatics.charite.de/supertoxic/index.php?site=faqs> **dostopno 23.06.2016**
97. <https://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=CHEMICALSEARCH:59>: **dostopno 23.06.2016**
98. Livingstone DJ, Davis AM: *Drug Design Strategies: Quantitative Approaches 1st ed*, Cambridge : Royal Society of Chemistry, 2012: 254.
(https://books.google.si/books?id=YTguNIEpmnoC&pg=PA500&lpg=PA500&dq=Drug+Design+Strategies:+Quantitative+Approaches+book&source=bl&ots=X1eLIMfd8s&sig=aI78wMJfhwJqoQ1grl-WYYyxNSg&hl=sl&sa=X&ved=0ahUKEwirIf_N0ZnNAhWDGRQKHR2tB_IQ6AEIODAD#v=onepage&q&f=false) **dostopno 23.06.2016**
99. [https://books.google.si/books?id=pJFsBAAAQBAJ&pg=PA108&lpg=PA108&dq=Guidance+Document+on+the+Validation+of+\(Quantitative\)+Structure-Activity+Relationship+%5B\(Q\)SAR%5D+Models+book&source=bl&ots=15yXosKxOQ](https://books.google.si/books?id=pJFsBAAAQBAJ&pg=PA108&lpg=PA108&dq=Guidance+Document+on+the+Validation+of+(Quantitative)+Structure-Activity+Relationship+%5B(Q)SAR%5D+Models+book&source=bl&ots=15yXosKxOQ)

&sig=cmh12LngnLmSI1RAs2oSr5RDogk&hl=sl&sa=X&ved=0ahUKEwjqr9PX0pnNAhUGshQKHeiUD5MQ6AEIMjAC#v=onepage&q&f=false **dostopno 23.06.2014**

100.

http://www3.syngenta.com/country/hr/cr/Syngentin_program/Sredstva_za_zastitu_bilja/Inspekticidi/Pages/Actellic_50_EC.aspx **dostopno 23.06.2016**

101. Orton F, Rosivatz E, Scholze M, Kortenkamp A: *Widely Used Pesticides with Previously Unknown Endocrine Activity Revealed as in Vitro Antiandrogens.*

Environmental Health Perspectives 2011; 119 (6): 794-800.

102. Acton QA: *Steroid Receptors – Advances in Research and Application 2013 Ed*, ScholarlyEditionsTM, 2013:33

103. Ngoula F, Watcho P, Dongmo M-C, Kenfack A, Kamtchouing P, Tchoumboué J: *Effects of pirimiphos-methyl (an organophosphate insecticide) on the fertility of adult male rats.* African Health Sciences 2007; 7 (1): 3-9

104. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D4518> **dostopno 23.06.2016**

105. Lambright C, Ostby J, Bobseine K, Wilson V, Hotchkiss AK, Mann PC, Gray LE: *Cellular and Molecular Mechanisms of Action of Linuron: An Antiandrogenic Herbicide that Produces Reproductive Malformations in Male Rats.* Reproductive and

Developmental Toxicology: Toxicological Sciences: Oxford Journals 2000; 56 (2): 389-399

106. <http://www.toxipedia.org/display/toxipedia/Dicamba> **dostopno 23.06.2016**

107. Zhu L, Li W, Zha J, Wang Z: *Dicamba affects sex steroid hormone level and mRNA expression of related genes in adult rare minnow (Gobiocypris rarus) at environmentally relevant concentrations.* Environmental Toxicology 2014; 30 (6): 693-703

108. Kjeldsen LS, Ghisari M, Bonfeld-Jørgensen EC: *Currently used pesticides and their mixtures affect the function of sex hormone receptors and aromatase enzyme activity.* Toxicology and Applied Pharmacology 2013; 272 (2): 453–464

109. Taxviga C, Hadrupa N, Boberga J, Axelstada M, Bossib R, Bonfeld-Jørgensen EC, Vinggaard AM: *In vitro - in vivo correlations for endocrine activity of a mixture of currently used pesticides.* Toxicology and Applied Pharmacology 2013; 272 (3): 757–766

110. Wynn S, Twining S, Ritchie F, Cook S, White S, Storey M: *Potential impact on GB potatoes of the Community Strategy for Endocrine Disruptors (ED's).* Agriculture and Horticulture Development Board, AHDB Potato Council, Report No. 2014/7

111. Ewence A, Rumsby P, Johnson I: *Extended impact assessment study of the human health and environmental criteria for endocrine disrupting substances proposed*. HSE, CRD, 2013; Ref: Defra9088.01
112. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D1700> **dostopno 23.06.2016**
113. Kelly D: *Chlorothalonil Biological and Use Profile* (spletno gradivo podjetja Syngenta):
http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/surfwtr/presentations/syngenta_presentation_2012.pdf
dostopno 23.06.2016
114. Mnif W, Hadj Hassine AI, Bouaziz A, Bartegi A, Thomas O, Roig B: *Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review*. International Journal of Environmental Research and Public Health 2011; 8: 2265-2303
115. McMahon TA, Halstead NT, Johnson S, et al: *The Fungicide Chlorothalonil Is Nonlinearly Associated with Corticosterone Levels, Immunity, and Mortality in Amphibians*. Environmental Health Perspectives 2011; 119 (8): 1098-1103
116. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/150.htm> **dostopno 23.06.2016**
117. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3819> **dostopno 23.06.2016**
118. Spletno gradivo podjetja Belchim Crop Protection:
http://www.picount.si/vr/images/stories/VARSTVO_RASTLIN/Profilux.pdf **dostopno 23.06.2016**
119. <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+94-75-7>
dostopno 23.06.2016
120. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D0248> **dostopno 23.06.2016**
121. Pohanish RP: *Sittig's Handbook of Pesticides and Agricultural Chemicals*; Hurley PM, Hill RN, Whiting RJ. 1998
122. <http://www.toxipedia.org/display/toxipedia/2,4-D> **dostopno 23.06.2016**
123. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/24d-captan/azadirachtin-ext.html>
dostopno 23.06.2016
124. Abrol DP, Shankar U: *Integrated Pest Management: Principles and Practice*, CAB International 2012: 126-127 (https://books.google.si/books?id=Pb-aPOWkoawC&pg=PA127&lpg=PA127&dq=Integrated+Pest+Management:+Principles+and+Practice+azadirachtin&source=bl&ots=oJgvpZh5HX&sig=VtRjlgXsv6aSFGmtKHiz-dzh9u8&hl=sl&sa=X&ved=0ahUKEwi7_ru-85fNAhXIVxQKHeUHAhQQ6AEIHzAA#v=onepage&q=Integrated%20Pest%20Manage)

ment%3A%20Principles%20and%20Practice%20azadirachtin&f=false) **dostopno 23.06.2016**

125. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/haloxfop-methylparathion/mcpa-ext.html> **dostopno 23.06.2016**

126. Orton F, Lutz I, Kloas W, Routledge EJ: *Endocrine disrupting effects of herbicides and pentachlorophenol: in vitro and in vivo evidence*. Environmental Science & Technology 2009; 43 (6): 2144-2150

127. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/haloxfop-methylparathion/mecoprop-ext.html> **dostopno 23.06.2016**

128. Spletno gradivo organizacije "Food and Agriculture Organization of the United Nation":

http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation07/Dimethomorph.pdf **dostopno 23.06.2016**

129. Ortona F, Ermlera S, Kugathasa S, Rosivatz E, Scholze M, Kortenkamp A: *Mixture effects at very low doses with combinations of anti-androgenic pesticides, antioxidants, industrial pollutant and chemicals used in personal care products*. Toxicology and Applied Pharmacology 2014; 278 (3): 201–208

130. Orton F, Rosivatz E, Scholze M, Kortenkamp A: *Competitive Androgen Receptor Antagonism as a Factor Determining the Predictability of Cumulative Antiandrogenic Effects of Widely Used Pesticides*. Environmental Health Perspectives 2012; 120 (11): 1578-1584

131. Spletno gradivo:

<https://www.beyondpesticides.org/assets/media/documents/pesticides/factsheets/cyfluthrin.pdf> **dostopno 23.06.2016**

132. Spletno gradivo organizacije "WHO-World Health Organization":

http://www.who.int/whopes/quality/en/Cyfluthrin_spec_eval_WHO_Nov_2004.pdf **dostopno 23.06.2016**

133. Spletno gradivo organizacije "Food and Agriculture Organization of the United Nation":

http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/beta_cyf.pdf **dostopno 23.06.2016**

134. Spletno gradivo:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb6835937e0023/pdf> **dostopno 23.06.2016**
135. Zhang J, Zhu W, Zheng Y, Yang J, Zhu X: *The antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides cyfluthrin and β -cyfluthrin*. *Reproductive Toxicology* 2008; 25 (4): 491–496
136. Du G, Shen O, Sun H, Fei J, Lu C, Song L, Xia Y, Wang S, Wang X: *Assessing Hormone Receptor Activities of Pyrethroid Insecticides and Their Metabolites in Reporter Gene Assays*. *Toxicological Sciences: Oxford Journals* 2010; 116 (1): 58-66
137. Kojima H, Katsura E, Takeuchi S, Niiyama K, Kobayashi K: *Screening for estrogen and androgen receptor activities in 200 pesticides by in vitro reporter gene assays using Chinese hamster ovary cells*. *Environmental Health Perspectives* 2004; 112 (5): 524-531
138. <http://endocrinedisruption.org/endocrine-disruption/tedx-list-of-potential-endocrine-disruptors/overview> **dostopno 23.06.2016**
139. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/si/Reports/74.htm> **dostopno 23.06.2016**
140. Da Silva ALL, Rodrigues C, Da Luz Costa J, Machado MP, De Oliveira Penha R, Biasi LA, De Souza Vandenberghe LP, Soccol CR: *Gibberellic Acid Femented Extract Obtained by Solid-State Fermentation Using Citric Pulp by Fusarium Moniliforme: Influence on Lavandula Angustifolia Mill., Cultivated In Vitro*, *Pakistan Journal of Botany* 2013; 45 (6): 2057-2064
141. Gupta R, Chakrabarty SK: *Gibberellic acid in plant: Still a mystery unresolved*. *Plant Signaling & Behavior* 2013; 8 (9): e25504
142. Shaw I: *Endocrine-disrupting chemicals in food*, Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, 2009: 4
143. Premalatha R, Jubendradass R, Srikumar K Mathur PP: *Gibberellic acid acts as an agonist of steroidogenesis in male rats*. *First International Journal of Andrology, Andrologia* 2014; 46 (8): 902-9
144. Lu HY, Tsai BL, Wang YH, Lee YY: *Evaluation of estrogenic response to gibberellic acid with in vitro reporter gene assay and E-screen assay*. *The journal of Toxicological Sciences* 2012; 37 (2): 413
145. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D1034> **dostopno 23.06.2016**

146. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v38je07.htm> **dostopno 23.06.2016**
147. Spletno gradivo agencije EPA: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/cypermethrin-109702_2015-06-29_txr0057164.pdf **dostopno 23.06.2016**
148. Kojima H, Takeuchi S Nagai T: *Endocrine-disrupting Potential of Pesticides via Nuclear Receptors and Aryl Hydrocarbon Receptor*. Journal of Health Science 2010; 56 (4) 374-386
149. Zhang J, Zhang J, Liu R, Gan J, Liu J, Liu W: *Endocrine-Disrupting Effects of Pesticides through Interference with Human Glucocorticoid Receptor*; Environmental Science & Technology 2016; 50 (1) 435-443
150. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/617.htm> **dostopno 23.06.2016**
151. <http://www.inchem.org/documents/ukpids/ukpids/ukpid82.htm> **dostopno 23.06.2016**
152. <http://www.beyondpesticides.org/resources/pesticide-gateway?pesticideid=284> **dostopno 23.06.2016**
153. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D4509> **dostopno 23.06.2016**
154. <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+131341-86-1> **dostopno 23.06.2016**
155. Teng Y, Manavalan TT, Hu C, Medjakovic S, Jungbauer A, Klinge CM: *Endocrine Disruptors Fludioxonil and Fenhexamid Stimulate miR-21 Expression in Breast Cancer Cells*. Toxicological Sciences 2013; 131 (1): 71-83
156. Medjakovic S; Zoechling A; Gerster P; Ivanova MM; Teng Y; Klinge CM; Schildberger B; Gartner M; Jungbauer A: *Effect of nonpersistent pesticides on estrogen receptor, androgen receptor, and aryl hydrocarbon receptor*. Environmental Toxicology 2014; 29 (10): 1201-16
157. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3896> **dostopno 23.06.2016**
158. <https://www.fluoridealert.org/wp-content/pesticides/oxyfluorfen-page.htm> **dostopno 23.06.2016**
159. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3842> **dostopno 23.06.2016**
160. Janesick AS, Dimastrogiovanni G, Vanek L, Boulos C, Chamorro-García R, Tang W, Blumberg B: *On the Utility of ToxCast™ and ToxPi as Methods for Identifying New Obesogens*. Environ Health Perspect 2015

161. Spletno gradivo: <http://apvma.gov.au/sites/default/files/publication/13751-prs-fluazinam.pdf> **dostopno 23.06.2016**
162. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/si/Reports/353.htm> **dostopno 23.06.2016**
163. http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC37513 **dostopno 23.06.2016**
164. Spletno gradivo: <http://www.pan-europe.info/sites/pan-europe.info/files/public/resources/reports/pane-2015-pan-europe-impact-assessment-of-the-endocrine-disrupting-pesticides.pdf> **dostopno 23.06.2016**
165. Spletno gradivo: http://npic.orst.edu/factsheets/l_cyhalogen.pdf **dostopno 23.06.2016**
166. Spletno gradivo organizacije "WHO-World Health Organization": http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation08/Lambda-cyhalothrin.pdf **dostopno 23.06.2016**
167. Zhao M, Zhang Y, Liu W, Xu C, Wang L, Gan J: *Estrogenic Activity of Lambda-Cyhalothrin in the MCF-7 Human Breast Carcinoma Cell Line*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2008; 27 (5): 1194-1200
168. http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC35463 **dostopno 23.06.2016**
169. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3838> **dostopno 23.06.2016**
170. Spletno gradivo agencije "The European Agency for the Evaluation of Medical Products": http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015449.pdf **dostopno 23.06.2016**
171. <http://www.pan-uk.org/pestnews/Actives/endocrin.htm> **dostopno 23.06.2016**
172. Ghisari M, Long M, Tabbo A, Bonefeld-Jørgensen EC: Effects of currently used pesticides and their mixtures on the function of thyroid hormone and aryl hydrocarbon receptor in cell culture. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2015; 284 (3): 292–303
173. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/608.htm> **dostopno 23.06.2016**
174. <http://www.agchemaccess.com/Epoxiconazole> **dostopno 23.06.2016**
175. Taxvig C, Hass U, Axelstad M, Dalgaard M, Boberg J, Andeasen HR, Vinggaard AM: *Endocrine-Disrupting Activities In Vivo of the Fungicides Tebuconazole and Epoxiconazole*. *Toxicological Sciences: Oxford Journals* 2007; 100 (2): 464-473

176. Kongsbak K; Vinggaard AM; Hadrup N; Audouze K: *A computational approach to mechanistic and predictive toxicology of pesticides*, ALTEX 2014; 31 (1): 11-22
177. Jensen BH, Petersen A, Christiansen S, Boberg J, Axelstad M, Herrmann SS, Poulsen ME: *Probabilistic assessment of the cumulative dietary exposure of the population of Denmark to endocrine disrupting pesticides*. Journal of Food and Chemical Toxicology 2013; 55: 113-20
178. Hass U, Boberg J, Christiansen S, Jacobsen PR, Vinggaard AM, Taxvig C, Poulsen ME, Herrmann SS, Jensen BH, Petersen A, Clemmensen LH, Axelstad M: *Adverse effects on sexual development in rat offspring after low dose exposure to a mixture of endocrine disrupting pesticides*. Journal of Reproductive Toxicology 2012; 34 (2): 261-74
179. Taxvig C, Vinggaard AM, Hass U, Axelstad M, Metzdorff S, Nellemann C: *Endocrine-disrupting properties in vivo of widely used azole fungicides*. International Journal of Andrology 2008; 31 (2): 170-7
180. http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC37441 **dostopno 23.06.2016**
181. Montes-Grajales D, Olivero-Verbel J: EDCs DataBank: 3D-Structure database of endocrine disrupting chemicals. Toxicology 2015; 327 (0): 87-94
(http://edcs.unicartagena.edu.co/data_sheet.php?id=309&varurl=data) **dostopno 23.06.2016**
182. <http://www.centrlifesciences.com/active-ingredients/diflubenzuron> **dostopno 23.06.2016**
183. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/dienochlor-glyphosate/diflubenzuron-ext.html> **dostopno 23.06.2016**
184. <http://www.inchem.org/documents/ehec/ehec/ehec184.htm> **dostopno 23.06.2016**
185. http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC34807, **dostopno 23.06.2016**
186. Paranjape K, Gowariker V, Krishnamurthy VN, Gowariker S: *The Pesticide Encyclopedia*, CABI, 2015
187. Spletno gradivo: <https://www.fluoridealert.org/wp-content/pesticides/endocrine.disruptors.ec2001.pdf> **dostopno 23.06.2016**
188. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3843> **dostopno 23.06.2016**
189. http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/herb-growthreg/fatty-alcohol-monuron/flufenacet/flufenacet_let_599.html **dostopno 23.06.2016**

190. Christenson WR, Becker BD, Wahle BS, Moore KD, Dass PD, Lake SG, Van Goethem DL, Stuart BP, Sangha GK, Thyssen JH: *Evidence of chemical stimulation of hepatic metabolism by an experimental acetanilide (FOE 5043) indirectly mediating reductions in circulating thyroid hormone levels in the male rat*. *Fundamental and Applied Toxicology Journal* 1996; 29 (2): 251-9
191. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/346.htm> **dostopno 23.06.2016**
192. European Food Safety Authority: *Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance flurochloridone*. *EFSA Journal* 2010; 8 (12): 1-66
193. PL Wylie: *Screening for 926 Pesticides and Endocrine Disruptors for GC/MS with Deconvolution Reporting Software and a New Pesticide Library: Application Note*. Spletno gradivo: <https://www.agilent.com/cs/library/applications/5989-5076EN.pdf> **dostopno 23.06.2016**
194. Spletno gradivo: http://www.scc-gmbh.de/New_Regulations_Approvals_Agrochemicals/3_flurochloridone_2011_34_EU_EN.pdf **dostopno 23.06.2016**
195. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/metiram-propoxur/permethrin-ext.html> **dostopno 23.06.2016**
196. <http://www.toxipedia.org/display/toxipedia/Permethrin?src=search> **dostopno 23.06.2016**
197. Sun H, Xu XL, Xu LC, Song L, Hong X, Chen JF, Cui LB, Wang XR: *Antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides and their metabolite in reporter gene assay*, *Chemosphere* 2007; 66 (3): 474-9
198. Brander SM, He G, Smalling KL, Denison MS, Cherr GN: *The in vivo estrogenic and in vitro anti-estrogenic activity of permethrin and bifenthrin*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2012; 31 (12): 2848–2855
199. Jin Y, Liu J, Wang L, Chen R, Zhou C, Yang Y, Liu W, Fu Z: *Permethrin exposure during puberty has the potential to enantioselectively induce reproductive toxicity in mice*. *Environment International – Journal* 2012; 42:144-51
200. Tu W, Xu C, Jin Y, Lu B, Lin C, Wu Y, Liu W: *Permethrin is a potential thyroid-disrupting chemical: In vivo and in silico evidence*. *Journal of Aquatic Toxicology* 2016; 175:39-46

201. Jin Y, Chen R, Sun L, Wang W, Zhou L, Liu W, Fu Z: *Enantioselective induction of estrogen-responsive gene expression by permethrin enantiomers in embryo-larval zebrafish*. Chemosphere 2009; 74 (9): 1238-44
202. Jin Y, Wang W, Xu C, Fu Z, Liu W: *Induction of hepatic estrogen-responsive gene transcription by permethrin enantiomers in male adult zebrafish*. Journal of Aquatic Toxicology 2008; 88 (2): 146-52
203. Kim SS, Lee RD, Lim KJ, Kwack SJ, Rhee GS, Seok JH, Lee GS, An BS, Jeung EB, Park KL: *Potential estrogenic and antiandrogenic effects of permethrin in rats*. Journal of Reproduction and Development 2005; 51 (2): 201-10
204. Spletno gradivo organizacije "WHO – World Health Organization":
http://www.who.int/whopes/quality/en/Etofenprox_eval_WHO_july_2007.pdf **dostopno 23.06.2016**
205. http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC33231 **dostopno 23.06.2016**
206. http://edcs.unicartagena.edu.co/data_sheet.php?id=354&varurl=data **dostopno 23.06.2016**
207. <http://npic.orst.edu/factsheets/dphengen.html#howwork> **dostopno 23.06.2016**
208. Brody SA, Loriaux DL: *Epidemic of gynecomastia among haitian refugees: exposure to an environmental antiandrogen*. Journal of Endocrine Practice 2003; 9 (5): 370-5
209. Saito K, Tomigahara Y, Ohe N, Isobe N, Nakatsuka I, Kaneko H: *Lack of significant estrogenic or antiestrogenic activity of pyrethroid insecticides in three in vitro assays based on classic estrogen receptor alpha-mediated mechanisms*. Oxford Journals of Toxicological Sciences 2000; 57 (1): 54-60
210. Yamada T, Ueda S, Yoshioka K, Kawamura S, Seki T, Okuno Y, Mikami N: *Lack of estrogenic or (anti-)androgenic effects of d-phenothrin in the uterotrophic and Hershberger assays*. Toxicology 2003; 186 (3): 227-39
211. <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+3922> **dostopno 23.06.2016**
212. <http://npic.orst.edu/factsheets/archive/dphentech.html> **dostopno 23.06.2016**
213. http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC34506 **dostopno 23.06.2016**
214. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/517.htm> **dostopno 23.06.2016**

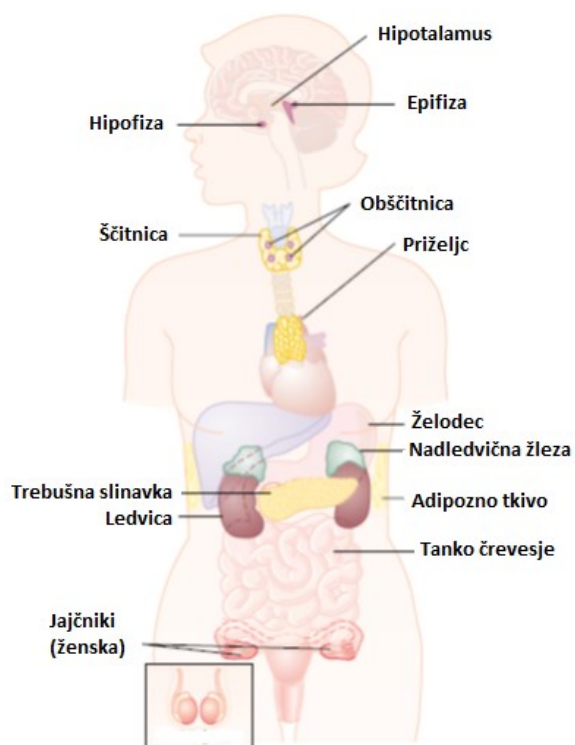
215. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3981> **dostopno 23.06.2016**
216. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/1340.htm> **dostopno 23.06.2016**
217. Wenzel A, Müller J, Ternes T: *Study on Endocrine Disruptors in Drinking Water*, Final Report ENV.D.1/ETU/2000/0083; spletno gradivo: http://ec.europa.eu/research/endocrine/pdf/drinking_water_en.pdf **dostopno 23.06.2016**
218. Chen X, Xu S, Tan T, Lee ST, Cheng SH, Lee FWF, Xu SJL, Ho KC: *Toxicity and Estrogenic Endocrine Disrupting Activity of Phthalates and Their Mixtures*. International Journal of Environmental Research and Public Health 2014; 11 (3): 3156-3168
219. Krüger T, Long M, Bonefeld-Jørgensen EC: *Plastic components affect the activation of the aryl hydrocarbon and the androgen receptor*. Toxicology 2008; 246 (2–3): 112–123
220. Spletno gradivo omrežja "PAN Germany": http://www.pan-germany.org/download/biocides/ED-Biocides_backgroundpaper_PAN-Germany_F.pdf **dostopno 23.06.2016**
221. http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC33048 **dostopno 23.06.2016**
222. http://edcs.unicartagena.edu.co/data_sheet.php?id=462&varurl=data **dostopno 23.06.2016**
223. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D1028> **dostopno 23.06.2016**
224. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/628.htm> **dostopno 23.06.2016**
225. <http://www.toxipedia.org/display/toxipedia/Tetramethrin> **dostopno 23.06.2016**
226. Kim SS, Kwack SJ, Lee RD, Lim KJ, Rhee GS, Seok JH, Kim BH, Won YH, Lee GS, Jeung EB, Lee BM, Park KL: *Assessment of estrogenic and androgenic activities of tetramethrin in vitro and in vivo assays*. Journal of Toxicology and Environmental Health 2005; 68 (23-24): 2277-89
227. Kim IY, Shin JH, Kim HS, Lee SJ, Kang IH, Kim TS, Moon HJ, Choi KS, Moon A, Han SY: *Assessing estrogenic activity of pyrethroid insecticides using in vitro combination assays*. Journal of Reproduction and Development 2004; 50 (2): 245-55
228. http://edcs.unicartagena.edu.co/data_sheet.php?id=524&varurl=data **dostopno 23.06.2016**
229. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/574.htm> **dostopno 23.06.2016**
230. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3916> **dostopno 23.06.2016**

231. Spletno gradivo agencije EPA: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/pyriproxyfen-129032_2015-06-29_txr0057140.pdf **dostopno 23.06.2016**
232. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3916> **dostopno 23.06.2016**
233. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/451.htm> **dostopno 23.06.2016**
234. Rotroff DM, Martin MT, Dix DJ, Filer DL, Houck KA, Knudsen TB, Sipes NS, Reif DM, Xia M, Huang R, Judson RS: *Predictive Endocrine Testing in the 21st Century Using in Vitro Assays of Estrogen Receptor Signaling Responses*. Environmental Science & Technology 2014; 48 (15): 8706-8716
235. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/182.htm> **dostopno 23.06.2016**
236. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3800> **dostopno 23.06.2016**
237. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/86.htm> **dostopno 23.06.2016**
238. Spletno gradivo agencije EPA:
https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-128008_01-Jul-03.pdf **dostopno 23.06.2016**
239. Spletno gradivo organizacije "Food and Agriculture Organization of the United Nation":
http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation10/Fluopyram.pdf **dostopno 23.06.2016**
240. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/1362.htm> **dostopno 23.06.2016**
241. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/612.htm> **dostopno 23.06.2016**
242. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3926> **dostopno 23.06.2016**
243. Spletno gradivo agencije EFSA:
http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/122r.pdf **dostopno 23.06.2016**
244. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/1671.htm> **dostopno 23.06.2016**
245. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/191.htm> **dostopno 23.06.2016**
246. Nielsen E, Nørhede P, Boberg J, Isling LK, Kroghsbo S, Hadrup N, Bredsdorff L, Mortensen A, Larsen JC: *Identification of Cumulative Assessment Groups of Pesticides, 2012*. Spletno gradivo:
http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/269e.pdf **dostopno 23.06.2016**
247. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D4504> **dostopno 23.06.2016**
248. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3868> **dostopno 23.06.2016**

249. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/307.htm> **dostopno 23.06.2016**
250. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/442.htm> **dostopno 23.06.2016**
251. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/516.htm> **dostopno 23.06.2016**
252. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/443.htm> **dostopno 23.06.2016**
253. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/674.htm> **dostopno 23.06.2016**
254. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/322.htm> **dostopno 23.06.2016**
255. Spletno gradivo organizacije EFSA:
http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/3984.pdf **dostopno 23.06.2016**
256. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/1282.htm> **dostopno 23.06.2016**
257. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/1474.htm> **dostopno 23.06.2016**
258. Seki T, Ito S, Adachi H, Yoshioka K, Hosokawa S, Yoshitake A, Miyamoto J, Kurata Y: *One-year chronic dietary toxicity study of d,d-T80-prallethrin in rats*. The Journal of Toxicological Sciences 1987; 12 (4): 397-428
259. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3102> **dostopno 23.06.2016**
260. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/1181.htm> **dostopno 23.06.2016**
261. <http://www.t3db.ca/toxins/T3D4533> **dostopno 23.06.2016**
262. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/58.htm> **dostopno 23.06.2016**

7 PRILOGE

Priloga 1:



Slika 3: Žleze, tkiva in organe, ki so vključene v endokrinem sistemu.

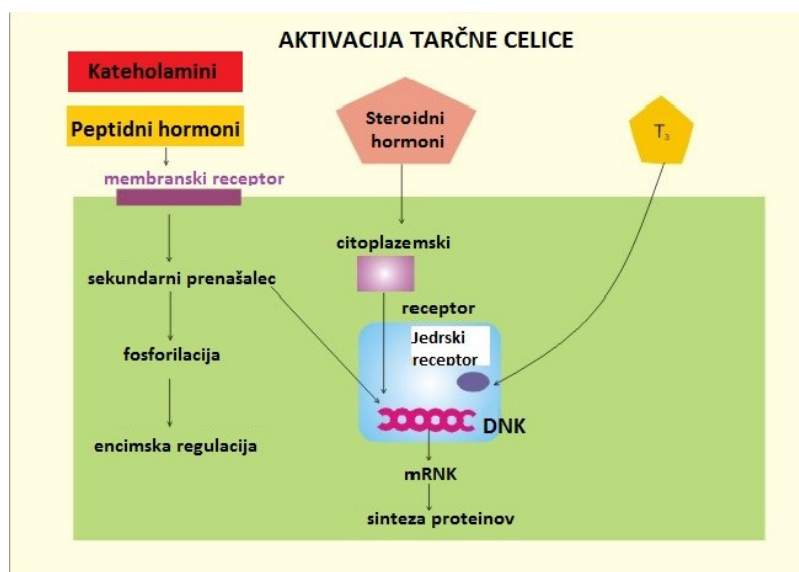
(Povzeto po: Guyton, Hall: *Textbook of Medical Physiology, 11th ed, Elsevier, 2006: 906*)

Priloga 2:

Preglednica XXXI: Podrobnejša predstavitev hormonov, iz katerega tkiva/žleze se ti izločajo, njihove glavne funkcije ter kemična zgradba. (Povzeto po: **Guyton, Hall: *Textbook of Medical Physiology, 11th ed, Elsevier, 2006: 907***)

Endokrine žleze, hormoni ter njihove funkcije in strukture			
Žleza/Tkivo	Hormoni	Glavne Funkcije	Kemična zgradba
Hipotalamus	TRH (Tiroliberin)	Stimulira sekrecijo TSH in prolaktina	Peptid
	CRH (kortikoliberin)	Povzroči sproščanje ACTH	Peptid
	GHRH (somatoliberin)	Povzroči sproščanje ravnega hormona	Peptid
	GHIH (rastni hormon-inhibitorni hormon)	Inhibira sproščanje ravnega hormona	Peptid
	GnRH (gnadoliberin) PIH (dopamin inhibitorni hormon)	Povzroča sproščanje LH in FSH Inhibira sproščanje prolaktina	Peptid Amin
Adenohipofiza	Rastni hormon	Stimulira sintezo proteinov in rast celic in tkiv	Peptid
	TSH (tiotropin)	Stimulira sintezo in sekrecijo ščitničnih hormonov	Peptid
	ACTH (kortikotropin)	Stimulira sintezo in sekrecijo adrenokortikalnih hormonov	Peptid
	Prolaktin FSH (folikel-stimulirajoči hormon)	Spodbuja razvoj dojk in izločanje mleka Povzroči rast foliklov v jajčnikih in zorjenje spermijev v Sertolijevih celicah v modah	Peptid Peptid
	LH (luteinizirajoči hormon)	Stimulira sintezo testosterona v Leydigovih celicah, ovulacijo, nastanek corpus luteuma in tvorbo estrogena in progesterona v jajčnikih	Peptid
Nevrohipofiza	ADH (antidiuretični hormon, vazopresin)	Poviša reabsorpcijo vode v ledvicah in povzroča vazokonstrikcijo in hipertenzijo	Peptid
	Oksitocin	Stimulira izločanje mleka in krčenje maternice	Peptid
Ščitnica	T ₄ (Tiroksin) in T ₃ (Trijodotironin)	Povišata hitrost kemičnih reakcijah v celicah	Amin (oba)
	Kalcitonin	Spodbuja izločanje kalcija iz kosti in zmanjša koncentracije kalcijevih ionov v ECT	Peptid
Skorja nadledvične žleze	Kortizol	Več metaboličnih funkcij za kontrolo metabolizma proteinov, ogljikovih hidratov in maščob. Deluje protivnetno.	Steroid
	Aldosteron	Poveča ledvično reabsorpcijo natrija, sekrecijo kalija in vodikovih ionov	Steroid
Sredica nadledvične žleze	Adrenalin in Noradrenalin	Učinek na simpatično stimulacijo	Amin (oba)
Trebušna slinavka	Inzulin (β-celice)	Spodbuja privzem glukoze v celice in s tem kontrolira metabolizem ogljikovih hidratov	Peptid
	Glukagon (α-celice)	Poveča sintezo in sproščanje glukoze iz celic jeter	Peptid
Obščitnica	PTH (Parathormon)	Kontrolira koncentracijo serumskega kalcija s povečanjem absorpcije kalcija v črevesju in ledvicah ter sproščanjem kalcija iz kosti	Peptid
Moda	Testosteron	Spodbuja razvoj moških spolnih organov in moških sekundarnih spolnih znakov	Steroid
Jajčniki	Estrogen	Spodbuja rast in razvoj ženskih spolnih organov in ženskih sekundarnih spolnih znakov	Steroid
	Progesteron	Stimulira sekrecijo "materničnega mleka" iz materničnih endometrijskih žlez in spodbuja razvoj sekretornega aparata dojk	Steroid
Placenta	HCG (človeški horionski gonadotropin)	Spodbuja rast rumenega telesca in sekrecijo estrogenov ter progesterona iz rumenega telesca	Peptid
	Človeški somatomamotropin	Pomaga pri razvoju fetalnih tkiv in materinih dojk	Peptid
	Estrogeni	Spodbuja rast in razvoj ženskih spolnih organov in ženskih sekundarnih spolnih znakov	Steroid
	Progesteron	Stimulira sekrecijo "materničnega mleka" iz materničnih žlez in spodbuja razvoj sekretornega aparata dojk	Steroid
Ledvice	Renin	Katalizira pretvorbo angiotenzina v angiotenzin I	Peptid
	1,25-dihidroksiholekalciferol	Poveča intestinalno absorpcijo kalcija in mineralizacijo kosti	Peptid
Srce	Eritropoetin	Poveča produkcijo eritrocitov	Peptid
	ANP (Atrijski natriuretični peptid)	Poveča izločanje natrija v ledvicah, zniža krvni tlak	Peptid
Želodec	Gastrin	Stimulira sekrecijo HCl iz parietalnih celic	Peptid
Tanko črevo	Sekretin	Stimulira izločanje bikarbonata in vode iz acinarnih celic trebušne slinavke	Peptid
	CCK (holecistokinin)	Stimulira krčenje sečnega mehurja in sproščanje encimov trebušne slinavke	Peptid
Adipociti	Leptin	Inhibira apetit, stimulira termogenezo	Peptid

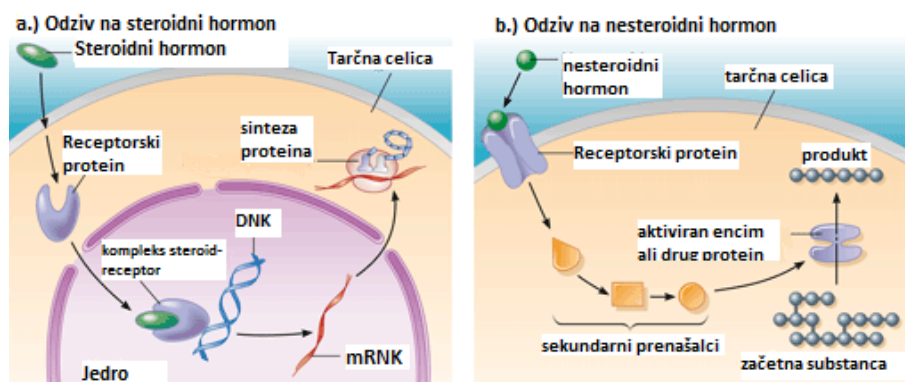
Priloga 3:



Slika 4: Aktivacija tarčne celice z različnimi tipi hormonov.

(Povzeto po: http://hmphysiology.blogspot.si/p/endocrine-physiology_3.html dostopno 23.06.2016)

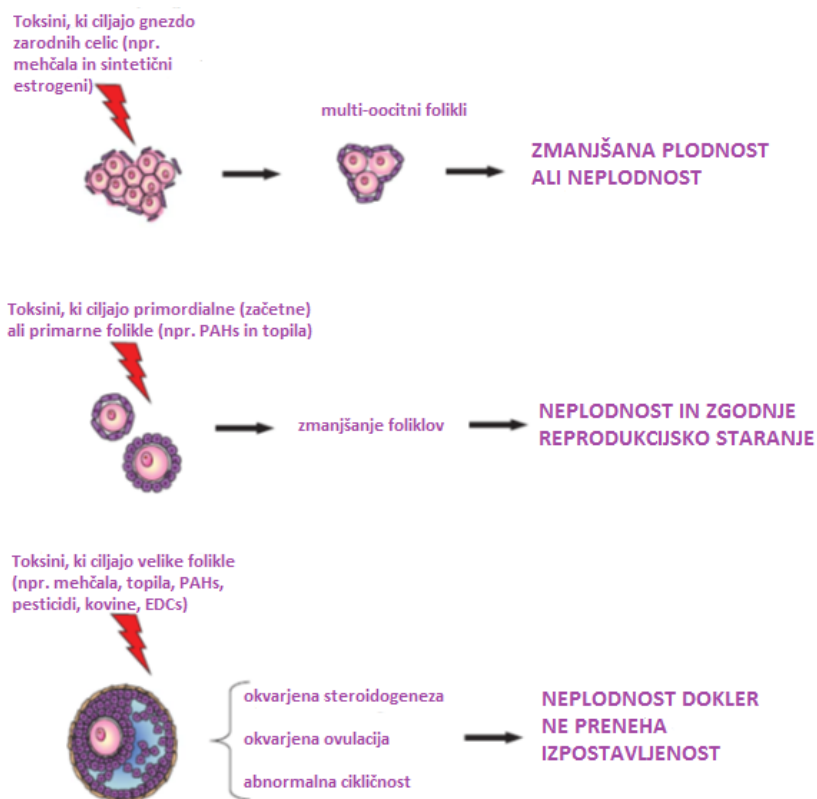
Priloga 4:



Slika 5: Odziv celice na steroidni in nesteroidni hormon.

(Povzeto po: <http://monicashormones.weebly.com/physiology.html> dostopno 23.06.2016)

Priloga 5:



Slika 6: Vpliv kemikalij v okolju na razvoj foliklov ter posledice za žensko plodnost. Potencialni učinki kemikalij na žensko plodnost so odvisni od stopnje razvoja folikla. Izpostavljenost kemikalijam v prenatalnem življenju lahko vpliva na nastajanje folikla in posledično vodi do zmanjšane plodnosti. Izpostavljenost kemikalijam v času reproduktivnega življenja lahko škodi plodnosti in vodi do zgodnjega reproduktivnega staranja. Izpostavljenost kemikalijam, ki vplivajo na folikle (od prenatalnih do ovulacijskih foliklov), lahko poslabša produkcijo steroidov in s tem blokira ovulacijo, kar vodi v neplodnost. (Povzeto po: **McQueen C: *Comprehensive Toxicology 2nd ed*, Elsevier, 2010: 5346**)

Priloga 6:

Jetrni receptor X

Jetrni X receptorji (LXR) imajo podobno osnovno strukturo kot ostali jedrni receptorji. LBD LXR α je sestavljena iz 10 α -vijačnic, z manjkajočo H2 [i]. LBD, ki se sestavlja receptor LXR β , ima isti kanonični zgib kot jedrni hormonski receptorji. Ta je sestavljen iz treh plasti α -vijačnic in treh malih β -listov (s0, s1 in s2). Ligand vežoč žep receptorja LXR β je velika hidrofobna votlina, ki je obdana s heliksi H3, H5, H6, H7, H11 in H12. Ta žep kaže precejšno plastičnost v smislu, da je lahko prilagodljiv za ligande z različno strukturo, najverjetneje zaradi prilagoditev rotacijskih konfomerov številnih ostankov, brez pomembnejših učinkov na celotno strukturo proteina. Ko se LBD nahaja v konformaciji agonista, obstaja vhod hidrofobne votline, ki se nahaja med H5 in zanko, ki se nahaja med s1 in s2. Dimerizacija ureja aktivnost LXR, ki je lahko homo- in heterodimerna. LXR se takoj aktivirajo preko heterodimerizacije z RXR (Retinoid X receptor). LXR-RXR heterodimer se potem veže na zaporedje imenovano LXRE (na LXR odzivni element-LXR responsive element). Vezan LXR-RXR na DR-4 odzivnem elementu je lahko transkripcijsko aktiviran bodisi z LXR- ali RXR-ligandom. LXR se lahko aktivira s heterodimerizacijo v odsotnosti liganda preko mehanizma, imenovanega z dimerizacijo inducirana aktivacija. Ta mehanizem zahteva AF-2 domene LXR, vendar ne AF-2 domene RXR. Na DNA vezan heterodimer LXR-RXR rekrutira SRC1 (steroidni koaktivator receptorja (steroid receptor coactivator 1)), ki pa inducira konformacijsko spremembo LXR. LXR α se največ izraža v jetrih ledvicah, črevesju, maščobi, pljučih, makrofagih in vranici, medtem ko se LXR β izraža vsepovsod [ii].

LXR so znani regulatorji z lipidi inducirane izražanja genov, ki negativno regulirajo izražanje vnetnih genov v makrofagih. Nedavno je bilo ugotovljeno, da KPHM-ji kot bisfenol A vpliva na izražanje LXR, in da LXR vpliva na metabolizem estrogena preko izražanja estrogenske sulfotransferaze, ki pa predstavlja transkripcijsko tarčo LXR. Zelo verjetno je, da KPHM-ji, zlasti ksenestrogeni, izvajajo vsaj del svojih učinkov prek LXR. Potrebne so nadaljne raziskave za celotno razumevanje vloge LXR pri endokrinih boleznih, ki jih potencialno povzročajo KPHM-ji [iii].

S peroksisomskim proliferatorjem aktivirani receptorji (PPAR)

S peroksisomskim proliferatorjem aktivirani receptorji (PPAR) so z ligandom aktivirani transkripcijski dejavniki. Regulirajo gene, ki so pomembni za diferenciacijo celic in različne metabolične procese, predvsem homeostazo lipidov in glukoze. V molekularnem

smislu so PPAR del družine z ligandom aktiviranih jedrnih receptorjev, ki pripadajo naddružini steroidnih receptorjev.

Po interakciji z agonisti se PPAR translocirajo v jedro in tvorijo heterodimer z drugim jedrnim receptorjem – retinoidni X receptor (RXR). Specifične DNA regije tarčnih genov, ki se vežejo s PPAR, se imenujejo na PPAR odzivni elementi (PPARE). Te se nahajajo na promotorjih PPAR odzivnih genov, kot je protein za vezavo maščobnih kislin (aP2). V večini primerov omenjeni proces aktivira transkripcijo različnih genov, ki so vključene v fiziološke in patofiziološke procese. Funkcijo PPAR modificirajo številni koaktivatorji in korepresorji, ki lahko stimulirajo ali inhibirajo funkcijo receptorjev. Ligandi, ki aktivirajo PPAR γ -RXR, povzročajo izmenjavo korepresorjev za koaktivatorje. V odvisnosti od tipa celic in zveze s specifičnimi kofaktorji drugih genov je razpoložljivost kofaktorjev v celicah različna.

Obstajajo tri izoforme PPAR, in sicer: PPAR α , PPAR β/δ in PPAR γ . Med seboj se razlikujejo po razporejenosti v tkivih, specifičnosti za ligande in fizioloških vlogah. PPAR α je izražen v metabolno aktivnih tkivih, kot so jetra, srce, skeletne mišice, črevesna sluznica in rjavo maščobno tkivo. Ta receptor je vpleten v metabolizem maščobnih kislin in njegova aktivacija znižuje raven lipidov. PPAR γ se izraža v belem in rjavem maščobnem tkivu, debelemu črevesju in vranici, največ se izraža v adipocitih, kjer igra ključno vlogo pri regulaciji adipogeneze, energijski bilanci in biosintezi lipidov. Ta receptor tudi sodeluje pri metabolizmu lipoproteinov in občutljivosti na insulin. Najmanj raziskana izoforma je PPAR β/δ . Nahaja se v vseh tkivih, vendar je najbolj prisotna v jetrih, črevesju, ledvicah, trebušnem maščobnem tkivu in skeletnih mišicah. Sodeluje v oksidaciji maščobnih kislin, predvsem v skeletnih in srčnih mišicah, uravnava koncentracijo holesterola ter raven glukoze [iv].

KPHM-ji, kot so ftalatni monoestri (mehčala), aktivirajo PPAR α in PPAR γ tako pri glodalcih kot pri ljudeh in zato obstaja visoka verjetnost, da imajo kemikalije, ki delujejo preko PPAR α negativne vplive na delovanje človeškega imunskega sistema [iii].

Disrupcijo PPAR lahko povzroči neravnovesje v homeostazi lipidov in metabolizmu glukoze. KPHM-ji, ki delujejo po tej poti, povzročajo debelost in se zato imenujejo obesogene kemikalije [v].

Retinoidni receptor (Retinoidni X receptor)

Prvi identificiran retinoidni receptor RXR α (NR2B1) je bil najprej opisan kot receptor sirota. Pozneje so ugotovili, da se odziva na visoke koncentracije vse-trans retinojske

kislina (all-trans retinoid acid-ATRA), kar vodi v njegovo aktivacijo. Ugotovljeno je bilo, da njen izomer, 9-cis retinojska kislina (9CRA), predstavlja ligand z visoko afiniteto za RXR α , kot tudi za ostala dva pozneje odkrita sorodna podtipa RXR β (NR2B2) in RXR γ (NR2B3).

RXR tvorijo heterodimere z nekaterimi člani naddružine jedrnih receptorjev. RXR receptorji tvorijo tudi homodimere (RXR-RXR), ob tem se postavlja vprašanje, če obstaja samostojni sistem signalnih poti. Obstajajo trije podtipi RXR. Vsak podtip vsebuje več izoform, ki se med sabo razlikujejo v N-terminalnih A/B domenih. Za RXR α obstajajo dve izoformi ($\alpha 1$ in $\alpha 2$), za RXR β obstajajo tudi dve izoformi ($\beta 1$ in $\beta 2$) ter za RXR γ sta dve izoformi ($\gamma 1$ in $\gamma 2$). Vsi trije RXR podtipi predstavljajo heterodimerizacijske partnerje za člane naddružine jedrnih receptorjev 1.

Študije *in vitro* so pokazale, da heterodimeri delujejo kot od liganda odvisni transkripcijski dejavniki s tem, da se specifično vežejo na DNA-odzivne elemente, ki se nahajajo na promotorju tarčnih genov, in da interakcija z RXR poveča učinkovitost DNA-vezave za vezanega partnerja.

DBD vsebuje s cisteinom bogata dva motiva cinkovega prsta, ki vežeta jedrne receptorje s specifično DNA sekvenco. LBD posreduje transkripcijsko aktivnost. Ta domena vsebuje štiri prekrivajoče se površine: ligand-vežočni žep, ki veže majhne lipofilne molekule, transaktivacijsko domeno (AF-2 ali heliks 12), površino za vezavo kofaktorja in površino za dimerizacijo. Ligand-vežočna vijačnica ima strukturo triplastne alfa-vijačnice. V spodnjem delu strukture je nepolarna votlina, ki predstavlja žep za vezavo liganda. V odvisnosti od razpoložljivosti partnerja (jedrnega receptorja) RXR tvorijo homo-ali heterodimere [vi].

RXR β je razširjen v skoraj vsakem tkivu, medtem ko se RXR α nahaja v jetrih, ledvicah, epidermisu, črevesih in koži. RXR γ se izraža v mišicah, določenih delih možganov in v hipofizi. RXR imajo ključno vlogo pri različnih razvojnih in presnovnih procesih [vii].

Neprimerna aktivacija RXR vodi v motnje nadzora homeostaze hormonov [viii]. Leta 2006 so poročali, da aktivacija receptorjev RXR in PPAR γ s tributil kositrom vpliva na adipogenezo. Dokazano je bilo, da tributil kositer pri vretenčarjih moti adipogenezo in s tem se zastavlja vprašanje, če kronična izpostavljenost nizkim odmerkom organokositrovih spojin preko hrane in vode moti adipogenezo pri ljudeh in s tem spodbuja debelost [ix].

Reference iz Priloge 6:

- i. Svensson S, Ostberg T, Jacobsson M, Norström C, Stefansson K, Hallén D, Johansson IC, Zachrisson K, Ogg D, Jendeberg L: *Crystal structure of the heterodimeric complex of LXRA and RXRb ligand-binding domains in a fully agonistic conformation*. EMBO Journal 2003; 22 (18): 4625-33
- ii. Burris TP, Solt LA, Wang Y, Crumbley C, Banerjee S, Griffett K, Lundasen T, Hughes T, Kojetin DJ: *Nuclear Receptors and Their Selective Pharmacologic Modulators*. Pharmacological Reviews 2013; 65: 710–778
- iii. Bergman A, Heindel JJ, Jobling S, Kidd KA, Zoeller RT: *State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals*, WHO, World Health Organisation; UNEP, United Nation Environment Programme, 2012: 165
- iv. Grygiel-Górniak B: *Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications – a review*. Nutrition Journal 2014; 13:17
- v. Darbre PD: *Endocrine Disruption and Human Health*, Elsevier, 2015: 112
(https://books.google.si/books?id=yOOCBAAAQBAJ&pg=PA112&lpg=PA112&dq=PPAR+and+EDCs&source=bl&ots=TcGmIfU1OH&sig=MchCwcs_IRtC-KWyJtTfrrVCju8&hl=sl&sa=X&ved=0ahUKEwiymMWj5rDJAhVD8Q4KHf8_AIA4ChDoAQgZMAA#v=onepage&q&f=false) **dostopno 23.06.2016**
- vi. Szanto A, Narkar V, Shen Q, Uray IP, Davies PJA, Nagy L: *Retinoid X receptors: X-ploring their (patho)physiological functions, Review*. Cell Death and Differentiation 2004; 11: 126–143
- vii. Germain P, Chambon P, Eichele G, Evans RM, Lazar MA, Leid M, De Lera AR, Lotan R, Mangelsdorf DJ, Gronemeyer H: *International Union of Pharmacology. LXIII. Retinoid X receptors*. Pharmacological Reviews 2006; 58 (4): 760-72
- viii. Grün F, Blumberg B: *Environmental Obesogens: Organotins and Endocrine Disruption via Nuclear Receptor Signaling*. Endocrinology 2006; 147: 50 –55
- ix. Swedenborg E, Rüegg J, Mäkelä S, Pongratz I: *Endocrine disruptive chemicals: mechanisms of action and involvement in metabolic disorders*. Journal of Molecular Endocrinology 2009; 43 (1): 1-10

Priloga 7:

Register biocidnih proizvodov

(Povzeto po: Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije; Urad Republike Slovenije za kemikalije: Register biocidnih proizvodov, http://www.uk.gov.si/si/delovna_podrocja/biocidni_proizvodi/register_biocidnih_proizvodov/, dostopno 25.06.2016)

GLAVNA SKUPINA 1: *razkužila.*

Te vrste proizvodov ne obsegajo čistilnih sredstev, ki nimajo biocidnega učinka, kar velja tudi za tekočino za pomivanje, pralni prašek in podobne proizvode.

Vrsta proizvodov 1: *človekova osebna higiena.*

Proizvodi v tej skupini so biocidni proizvodi, ki se uporabljajo za človekovo osebno higieno bodisi z nanosom na kožo ali lasišče bodisi s stikom z njima, in sicer predvsem zaradi razkuževanja kože ali lasišča.

Vrsta proizvodov 2: *razkužila in algicidi, ki niso namenjeni neposredni uporabi na ljudeh ali živalih.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za razkuževanje površin, materialov, opreme in pohištva ter se ne uporabljajo v neposrednem stiku s hrano ali krmo. Uporabljajo se med drugim v plavalnih bazenih, akvarijih, kopalni in drugih vodah, klimatskih napravah ter na stenah in tleh zasebnih, javnih in industrijskih površin, pa tudi na drugih območjih za poklicne dejavnosti.

Proizvodi, ki se uporabljajo za razkuževanje zraka, vode, ki ni namenjena uživanju za ljudi in živali, kemičnih stranišč, odpadnih voda, bolnišničnih odpadkov in prsti.

Proizvodi, ki se uporabljajo kot algicidi v plavalnih bazenih, akvarijih in drugih vodah ter za sanacijo gradbenega materiala.

Proizvodi, ki se uporabljajo tako, da se z njimi prepojijo tekstil, higienski papir, maske, barvila in drugi izdelki ali materiali, da bi proizvedeni tretirani izdelki delovali razkužilno.

Vrsta proizvodov 3: *veterinarska higiena.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za veterinarsko higienske namene, kot so razkužila, razkužilna mila, proizvodi za higieno ust ali telesa ali z antimikrobiološkim učinkom.

Proizvodi, ki se uporabljajo za razkuževanje materialov in površin, povezanih z nastanitvijo ali prevozom živali.

Vrsta proizvodov 4: *za območja s hrano in krmo.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za razkuževanje opreme, posod, posod za hrano, orodja, površin ali cevovodov, ki so povezani s proizvodnjo, prevozom, skladiščenjem ali uživanjem hrane ali krme (vključno s pitno vodo) za ljudi in živali.

Proizvodi, ki se uporabljajo za impregnacijo materialov, ki lahko pridejo v stik s hrano.

Vrsta proizvodov 5: *pitna voda.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za razkuževanje pitne vode za ljudi in živali.

GLAVNA SKUPINA 2: *sredstva za konzerviranje.*

Če ni drugače navedeno, vključujejo te vrste proizvodov samo proizvode, ki preprečujejo razvoj mikrobov in alg.

Vrsta proizvodov 6: *sredstva za konzerviranje proizvodov med shranjevanjem.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za konzerviranje izdelkov razen hrane, krme, kozmetičnih proizvodov, zdravil ali medicinskih pripomočkov in delujejo tako, da preprečujejo kvarjenje izdelka zaradi delovanja mikrobov in s tem zagotavljajo njegov veljavni rok uporabnosti.

Proizvodi, ki se uporabljajo kot konzervansi za shranjevanje ali uporabo rodenticidnih, insekticidnih ali drugih vab.

Vrsta proizvodov 7: *sredstva za zaščito (ohranitev) prevlek.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za ohranjanje zaščitnih prevlek ali premazov in delujejo tako, da preprečujejo kvarjenje izdelka zaradi delovanja mikrobov ali rasti alg, da bi zaščitili prvotne lastnosti površine materiala ali predmetov, kot so barve, plastika, tesnilna sredstva, stenska veziva, veziva, papirni izdelki in umetniška dela.

Vrsta proizvodov 8: *sredstva za zaščito lesa.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za zaščito lesa ne glede na stopnjo predelave, vključno z lesom na žagi, ali preprečujejo razvoj organizmov, ki uničujejo ali kvarijo les, vključno z žuželkami. Med te izdelke spadajo preventivna sredstva in sredstva za sanacijo.

Vrsta proizvodov 9: *proizvodi za zaščito vlaken, usnja, gume in polimeriziranih materialov.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za zaščito vlaknastih ali polimeriziranih materialov, na primer izdelkov iz usnja, gume ali papirja ali tekstilnih izdelkov s preprečevanjem kvarjenja

zaradi mikrobov. Ta vrsta proizvodov vključuje biocidne proizvode, ki preprečujejo naselitev mikroorganizmov na površini materialov in zato ovirajo ali preprečujejo nastanek neprijetnega vonja in/ali prinašajo druge vrste koristi.

Vrsta proizvodov 10: *sredstva za zaščito gradbenega materiala.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za zaščito zidarskih proizvodov, sestavljenih materialov ali drugega gradbenega materiala razen lesa in preprečujejo mikrobo delovanje in naseljevanje alg.

Vrsta proizvodov 11: *proizvodi za zaščito sistemov hladilnih tekočin in predelovalnih sistemov.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za konzerviranje vode ali drugih tekočin za rabo v hladilnih in predelovalnih sistemih, in sicer s preprečevanjem razvoja škodljivih organizmov, kot so mikrobi, alge in školjke.

Proizvodi, ki se uporabljajo za razkuževanje pitne vode ali vode v plavalnih bazenih, niso vključeni v to vrsto proizvodov.

Vrsta proizvodov 12: *slimicidi.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za preprečevanje ali nadzor nastajanja sluzi na materialih, opremi ali konstrukcijah, ki se uporabljajo v industrijskih postopkih, na primer pri lesni ali papirni kaši, pri poroznih peščenih slojih pri pridobivanju naftnih derivatov.

Vrsta proizvodov 13: *sredstva za zaščito tekočin, ki se uporabljajo pri rezanju ali obdelavi materialov.*

Proizvodi, ki preprečujejo kvarjenje tekočin, ki se uporabljajo pri rezanju ali obdelavi kovin, stekla ali drugih materialov, zaradi delovanja mikrobov.

GLAVNA SKUPINA 3: *nadzor škodljivcev.*

Vrsta proizvodov 14: *rodenticidi.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za nadzor miši, podgan ali drugih glodavcev, vendar ne z njihovim odganjanjem ali privabljanjem.

Vrsta proizvodov 15: *avicidi.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za nadzor ptic, vendar ne z njihovim odganjanjem ali privabljanjem.

Vrsta proizvodov 16: *moluskicidi, vermiciidi in proizvodi za nadzor drugih nevretenčarjev.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za nadzor mehkužcev, črvov in nevretenčarjev ter niso vključeni v druge vrste proizvodov, vendar ne z njihovim odganjanjem ali privabljanjem.

Vrsta proizvodov 17: *piskicidi.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za nadzor rib, vendar ne z njihovim odganjanjem ali privabljanjem.

Vrsta proizvodov 18: *insekticidi, akaricidi in proizvodi za nadzor drugih členonožcev.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za nadzor členonožcev (npr. žuželk, pajkov in rakov), vendar ne z njihovim odganjanjem ali privabljanjem.

Vrsta proizvodov 19: *repelenti in atraktanti.*

Proizvodi, ki se neposredno ali posredno uporabljajo za nadzor škodljivih organizmov (nevretenčarjev, kot so bolhe, in vretenčarjev, kot so ptice, ribe, glodavci) z odganjanjem ali privabljanjem, vključno s sredstvi za higieno ljudi ali živali, ki se uporabljajo bodisi neposredno na koži bodisi posredno v človeškem ali živalskem okolju.

Vrsta proizvodov 20: *nadzor drugih vretenčarjev.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za nadzor vretenčarjev in niso vključeni v druge vrste proizvodov te glavne skupine, vendar ne z njihovim odganjanjem ali privabljanjem.

GLAVNA SKUPINA 4: *drugi biocidni proizvodi.*

Vrsta proizvodov 21: *antivegetacijska sredstva.*

Proizvodi za preprečevanje rasti in naselitve neželenih organizmov (mikrobov in rastlinskih ali živalskih vrst) na plovilih, opremi za vodno kulturo in drugih objektih in konstrukcijah, ki se uporabljajo v vodi.

Vrsta proizvodov 22: *tekočine za balzamiranje in prepariranje.*

Proizvodi, ki se uporabljajo za razkuževanje in ohranjanje človeških ali živalskih trupel ali njihovih delov.

Priloga 8:

Preglednica XXXII: Rezultati testiranja s pomočjo programa Endocrine disruptome za vse preizkušane spojine.

Receptor	AR	AR (an)	ER α	ER α (an)	ER β	ER β (an)	GR	GR (an)	LXR α	LXR β	PPAR α	PPAR β	PPAR γ	RXR α	TR α	TR β	
Verjetnost	0=skoraj neobstoječa verjetnost, da pride do vezave; +=zelo majhna verjetnost, da pride do vezave;																
Spojina	Uporaba	++=večja verjetnost, da pride do vezave; +++=zelo visoka verjetnost, da pride do vezave															
Dimetomorf	Fungicid	0	0/+	0	0/+	0	++	+	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0
Mankozeb	Fungicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tiametoksam	Insekticid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pirimifos-metil	Insekticid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pendimetalin	Herbicid	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Izoksaflutol	Herbicid	+	++	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+
Tienkarbazon	Herbicid	0	0	0	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Linuron	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Emamektin	Insekticid	NI MOŽNOSTI TESTIRANJA (MM>800)															
Propakvizafop	Herbicid	0	0	0	+	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Metaldehid	Limacid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dimetanamid-p	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Terbutilazin	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fosetil-al	Fungicid																
Nikosulfuron	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0/+	+	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Rimsulfuron	Herbicid	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Dikamba	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diflufenikan	Herbicid	+	++	+++	+++	+	+++	+++	+	++	+	0/+	0/+	++	++	+++	+++
Jodosulfuron metil-natrij	Herbicid																
Jodosulfuron-metil	Herbicid	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Mezosulfuron	Herbicid	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+
Metsulfuron-metil	Herbicid	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Metaflumizon	Insekticid	0	0	+	0/+	0	+	++	+	0	0/+	++	++	++	+	0	0
CuSO ₄	Fungicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Zoksamid	Fungicid	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Alfanaftil acetamid (NAD)	Fitoregulator	+	0/+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Azoksistrobin	Fungicid																
Ciprokonazol	Fungicid	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Klorotalonil	Fungicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Propineb	Fungicid																
Cimoksanil	Fungicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Klofentezin	Akaricid	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+
Izolat M 10 glive ampelomyces quisqualis	Fungicid																
Tepraloksdim-izomer	Herbicid	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Fenpropidin	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	++	+
Propikonazol	Fungicid	0	0/+	0/+	0	0	0/+	0/+	0/+	0	0	0	0	0	0	0/+	+
Mezotripon	Herbicid	0/+	++	0	0	0	0	+	0/+	0	0	0	0	0	0	0/+	+
Tritosulfuron	Herbicid	0	0/+	0/+	0	+	0/+	++	+	0	0	+	0	+	0	0/+	0/+
MCPA=2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid	Gnojilo, herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mekoprop-P	Gnojilo, herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Železov (II) sulfat	Gnojilo, herbicid																
Propoksikarbazon	Herbicid	0	0	0	0	0	0	+	0/+	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Pinoksaden	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0
Lorasulam	Herbicid	0/+	+++	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+
Abamektin	Insekticid, gnojilo	NI MOŽNOSTI TESTIRANJA (MM>800)															
Bentazon	Herbicid	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dazomet	Herbicid, nematocid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Glufosinat-amonijeva sol	Herbicid																
Karbendazim	Fungicid	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Desmedifam	Herbicid	0/+	+	0	0	0/+	0/+	+	0/+	0	0	0	0	0	0	+	+
Fenmedifam	Herbicid	+	+	0/+	0	0/+	0	+	+	0/+	0	0	0	0	0	0/+	++
Boskalid	Fungicid	0	+	+	0/+	0/+	++	+	+	0/+	0/+	0	0	0/+	0/+	0/+	+
Piraklostrobin	Fungicid	0	0	0	0/+	0	0/+	+	+	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Etofumesat	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0/+
Etofumesat S	Herbicid	+	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Metamitron	Herbicid	0/+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0

Piretrin 1	Insekticid	0/+	+	0/+	0	0/+	0	+	+	0/+	0	0	0	0	0	+	++
Piretrin 2	Insekticid	0	0/+	0/+	0	0	0	+	0/+	0	0	0	0	0	0	0/+	+
Piretrin 2, R-izomer	Insekticid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Piretrin 2, S-izomer	Insekticid	0	0	0/+	0	0	0	+	0/+	0	0	0	0	0	0	+	+/+
Baker v obliki tri valentnega bakrovega sulfata	Fungicid	kompleks (desruptom ne more testirati)															
Glifosat v obliki izopropilamonijeve soli	Herbicid																
Tiakloprid	Insekticid	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aureobasidium pullulans (de Bary) Arnaud (soj DSM 14940 in 14941)	Sredstvo z bakteriostatskim delovanjem																
Aureobasidium pullulans (de Bary) Arnaud (soj DSM 14940 in 14941)	Fungicid																
Prosulfokarb	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Polieter-polimetilsiloksan-kopolimer	Močilo																
Bromoksinil oktanoat	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0/+
Beta-ciflutrin	Insekticid	0	0/+	+	0/+	0	0/+	+	+	0/+	0/+	0	0	0/+	+	+	++
Metazaklor	Herbicid	0/+	+	0	0	0/+	0	0/+	0/+	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Metribuzin	Herbicid	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Metiram	Fungicid																
S-metolaklor	Herbicid	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulozni virus Adoxophyes orana	Insekticid																
Metkonazol	Fungicid	+	++	0/+	0/+	+	0/+	+	0/+	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Granulozni virus Cydia Pomonella	Insekticid																
Prosulfuron	Herbicid	0	0/+	0	0	0/+	0	+	+	0	0	0	0	0/+	0	0/+	0/+
Prosulfuron-tavtomer	Herbicid	0	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	0	+	0	+	+
Acetamidrid	Insekticid, gnojilo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Olje navadne ogrščice (erucic acid)	Insekticid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Tiabendazol	Fungicid	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Klomazon	Herbicid	0/+	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0/+
Cu(OH) ₂	Fungicid																
Pimetrozin	Insekticid	0/+	0	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Pimetrozin (izomer)	Insekticid	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Ciprodinil	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Flukvinkonazol	Fungicid	0	0	0/+	0/+	0	0/+	+	+	0/+	0	0	0	0/+	0/+	0	0/+
Pirimetanil	Fungicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Imazamoks	Herbicid	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
R-imazamox	Herbicid	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
S-imazamox	Herbicid	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Kvinmerak	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Krezksim-metil	Fungicid	0/+	0/+	0/+	0	0	0	+	0/+	0	0	0	0	0	0	+	+
Krezksim-metil (izomer)	Fungicid	0	0/+	+	0	0	0	+	0/+	0	0	0	0	0	0	+	+
Imidakloprid	Insekticid	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
(E)-imidakloprid	Insekticid	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
(Z)-imidakloprid	Insekticid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Klorantraniliprol	Insekticid	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Fenpropimorf	Fungicid	0	+	0	0	0/+	0/+	+	0/+	0	0	0	0	0	0	0/+	++
(R)-fenpropimorf	Fungicid	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
(S)-fenpropimorf	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+
(R)-cis-fenpropimorf	Fungicid	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	+	++
(S)-cis-fenpropimorf	Fungicid	0	+	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
(2S, 6S)-fenpropimorf	Fungicid	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+
(2R, 6R)-fenpropimorf	Fungicid	0	+	0	0	0	+	+	+	+	0	0	0	0	0	+	+
(2R, 6S)-fenpropimorf	Fungicid	0	+	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+
Cis-fenpropimorf	Fungicid	0	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0	+	++
Žveplo	Fungicid																
Kvinoksifen	Fungicid	++	++	++	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	++	+
Cu iz Cu-oksiklorida	Fungicid																
Metil oleat	Močilo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Metil oleat-izomer	Močilo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Deltametrin	Insekticid	0	0	0/+	0/+	0	0/+	+	+	0/+	0/+	0	0/+	0/+	+	+	+
Trans-deltametrin	Insekticid	0	0	0/+	0	0	0	+	+	0/+	0/+	0	0	0/+	0/+	+	+
(S)-deltametrin	Insekticid	0	0	0/+	0/+	0	0/+	+	+	0/+	0	0	0/+	0/+	0/+	+	+
(R)-deltametrin	Insekticid	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+
Deltametrin ((S)-cyano(3-phenoxyphenyl)methyl (1R,3R)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate)	Insekticid	0	0/+	0/+	0/+	0	0/+	+	+	0/+	0	0	0	+	+	+	+
Deltametrin ((R)-cyano(3-phenoxyphenyl)methyl (1R,3S)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate)	Insekticid	0	0	0	0/+	0	+	+	+	0/+	0	0	0	0	+	+	+

Deltametrin ((R)-cyano-(3-phenoxyphenyl)methyl] (1S,3S)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate)	Insekticid	0	0	0	0/+	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+
Deltametrin ((R)-cyano-(3-phenoxyphenyl)methyl] (1R,3R)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate)	Insekticid	0	0	0/+	0	0	0	+	+	0/+	0/+	0	0	0	0/+	+	+
Magnezijev fosfid	Insekticid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ditianon	Fungicid	+	0/+	0	0	0/+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Bacillus Thuringiensis var. Kurstaki	Insekticid	protein velikosti 130-140 kDa															
Dikvat	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Napropamid	Herbicid	0/+	+	0/+	0/+	0/+	0	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+
(S)-napropamid	Herbicid	+	+	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
2,4-D	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Difenokonazol	Fungicid	0	0	+	+	0	0/+	+	+	0/+	0/+	0	0	0	0	0/+	+
Tetrazokonazol	Fungicid	0	+	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
(+)-Tetrazokonazol	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
(-)-Tetrazokonazol	Fungicid	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+
Ciflufenamid	Fungicid	0	+	+	+++	+	++	+	+	+	0	0	0/+	++	0/+	0/+	+
(E)-8-dodecen-1-il acetat	Feromon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Z-8-dodecil acetat	Feromon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Z-8-dodecen-1-ol	Feromon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Folpet	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0/+
Valifenalat	Fungicid	0	0	0	0	0	0	+	0/+	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Ametotradin	Fungicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Spirodiklofen	Akaricid																
Famoksadon	Fungicid	0	0/+	+	+++	0	++	++	+	++	++	+	++	++	+	+	++
R-famoksadon	Fungicid	0	0	0	++	0	++	+++	+	++	++	0/+	+++	++	0	+	++
S-famoksadon	Fungicid	0	0/+	+++	+++	0	+	++	+	++	++	+	+++	+++	+	+	++
Foramsulfuron	Herbicid	0	0	0	0	0	0/+	0/+	0/+	0	0	0	0	0/+	0	0	0/+
Tifensulfuron-metil	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
2,4-D 2-EHE	Herbicid	0	0	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	+	0
6-Benziladenin	Fitoregulator	+	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	+	0/+
E, E 8,10-dodekadien-1-ol (kotlemon)	Feromon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Etoksilirani oktifenol	Močilo																
Spirosamin	Fungicid	0	0	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Tebukonazol	Fungicid	0/+	0/+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
S-tebukonazol	Fungicid	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+
R-tebukonazol	Fungicid	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+
Triadimenol	Fungicid	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+
Giberelinska kislina (GA3)	Fungicid	++	+++	+	+	+	0/+	+	+	0/++	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Benalaksil-M	Fungicid	+	+	+	+	0	0/+	0/+	0/+	0	0	0	0	0/+	0	0/+	+
Alfa-cipermetrin	Insekticid	0	+	0/+	0	0	0	+	0	+	0	0	0	+	+	+	++
Cipermetrin	Insekticid	0	+	+	0/+	0	0/+	+	0	0/+	0	0	0/+	0/+	+	+	+
Pelargonska kislina	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Malein hidrazid	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Trifloksistrobin	Fungicid	0	+	0/+	0/+	0	0	+	0	0/+	0/+	0	0	0	0	0/+	+
Cikloksidim	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Metalaksil-M	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Teflutrin	Insekticid	++	+++	++	+	+	+	+	+	+	+	0	0/+	0/+	+	+	++
Z-(1R)-cis-teflutrin	Insekticid	++	+++	++	+	+	++	+	+	+	0	+	+	0/+	0	0	++
Z-(1S)-cis-teflutrin	Insekticid	++	+++	++	+	+	++	+	+	+	0/+	+	+	0	0/+	+	++
Dimetenamid-P	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fluazinam	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0/+	0	0	0	0	0	+	++
Parafinsko olje	Insekticid																
Fluazifop-p-butil	Herbicid	0/+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Fluroksipir	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fludioksonil	Fungicid	+	++	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Mandipropamid	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Spinosad (A+D)	Insekticid	NI MOŽNOSTI TESTIRANJA (MM>800)															
Oksifluorfen	Herbicid	++	++	0/+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tribenuron-metil	Herbicid	0	0/+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Amidosulfuron	Herbicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Glifosat	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Beflubutamid	Herbicid	+	++	+++	+	++	+++	+	0/+	0/+	0	0/+	0/+	++	+	++	++
Izoproturon	Herbicid	0/+	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Flutriafol	Fungicid	0/+	++	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
R-flutriafol	Fungicid	0	++	+	+	+	+	++	+	0	0	0	0	0	0	+	+
S-flutriafol	Fungicid	+	++	++	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Fenbukonazol	Fungicid	0/+	+	0	0	0	0/+	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	+
R-fenbukonazol	Fungicid	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
S-fenbukonazol	Fungicid	+	++	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+

Fluopikolid	Fungicid	+	++	+	0	+	0	+	0	0/+	0	0	0/+	0	0	+	+
Propamokarb	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1-Tetradekanol	Feromon	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dodekan-1-ol	Feromon	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pirafufen-etil	Herbicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lambda cihalotrin	Insekticid	0	+	+	0/+	0	+	+	0/+	+	+	0/+	+	++	++	+	+/++
Cihalotrin	Insekticid	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0/+	+++	+	++	+	++
Meptildinokap	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R-meptildinokap	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0
S-meptildinokap	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kremenčev pesek	Odvračalo																
Propizamid	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
CuOH	Fungicid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ciram	Odvračalo																
Milbemektin	Akaricid, insekticid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piriofenon	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Protiokonazol	Fungicid	0/+	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
R-protiokonazol	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
S-protiokonazol	Fungicid	0	++	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Tembotripon	Herbicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+
Piridat	Herbicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Triasulfuron	Herbicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+
Klopiralid	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fluopiram	Fungicid	++	+++	+	+	++	++	+	0/+	+	0	0	0	+	+	+	++
Tebufenpirad	Akaricid	0	++	0	0	0/+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	+
Tau-fluvalinat	Insekticid	0	+	++	+	0	0/+	++	+	+	+	++	++	++	+	0	+
Iprovalikarb		+	++	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	+
Demetilirano repično olje	Močilo																
Kaptan	Fungicid	0/+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Metiokarb	Odvračalo	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Ciazofamid	Fungicid	0	+	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Tebufenozid	Insekticid	0	+	0/+	+	0	+	+	0/+	+	0/+	0/+	0	0	0/+	+	+
Miklobutanil	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Trineksapak-etil	Fitoregulator	0/+	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	+	0/+
Kvinoklamin	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Beauveria bassiana, soj ATCC 74040 (ni več v registru)	Insekticid																
Azadirahitin A	Insekticid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Klorprofam	Fitoregulator	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Heksatiazoks	Akaricid	0	+	+	0	0/+	0/+	+	0/+	0/+	0/+	0	0	0	+	0/+	0/+
Giberelini(A4 in A7):A4	Fitoregulator	++	+++	+	0/+	+	0/+	+	0/+	0/+	0/+	0/+	0	0	0	0/+	0/+
Giberelini(A4 in A7):A7	Fitoregulator	+++	+++	+	0	++	0	+	0/+	+	0/+	0/+	0	0	0	0/+	+
Hidrolizirana koruzna moka	Dodatna sredstva																
Di-1-p-menten	Močilo	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Prokloraz	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	+
Epoksikonazol	Fungicid	0	++	++	+	++	++	+	0	0/+	0	0	0	0	0	+	+
(2S,3R)-epoksikonazol	Fungicid	0	+++	++	++	++	++	+	0	+	0	0	0	0	0	+	+
(2R,3S)-epoksikonazol	Fungicid	0	+++	++	+	++	++	+	0	+	0	0	0	0	0	+	+
Fenpiroksimat	Akaricid	0	+	+	+	0/+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0/+	+
Piroksulam	Herbicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	+
Dimetoat	Insekticid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aluminijev fosfid	Insekticid																
Pirimikarb	Insekticid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IBA (indol-3-butirna kislina)	Fitoregulator	0/+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Kalcijev fosfid	Odvračalo																
Kalcijev karbid	Odvračalo																
Flufenacet	Herbicid	+	++	0/+	0	0/+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Fenpirazamin	Fungicid	0	+	0/+	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	+
Propamokarb hidroklorid	Fungicid																
Kvizalofop-p-etil	Herbicid	0	0/+	0	0	0	0	+	0	0/+	0	0	0	0	0	+	+
Klorpirifos	Insekticid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Flurokloridon	Herbicid	++	++	+	0/+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Poliakilenoksid - modoficiran heptametiltrisiloksan kopolimer	Fungicid, močilo																
Proheksadion-kalcij	Fitoregulator																
Proheksadion	Fitoregulator	0/+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Klorpirifos-metil	Insekticid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Glifosat v obliki kalijeve soli	Herbicid																
Iprodion	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Metoksifenozid	Insekticid	0	+	0/+	0	0	0/+	+	0/+	0/+	0/+	0	0	0	0	0	0/+
Triflusalufuron-metil	Herbicid	0	0/+	0	0	0	0	0/+	+	0	0	0	0	0/+	0	0/+	0
Tritikonazol	Fungicid	0	+	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	+
(R)-tritikonazol	Fungicid	0	+	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(S)-tritikonazol	Fungicid	0	++	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+
Bacillus Subtilis	Fungicid																
Diatomejska zemlja	Insekticid																

1-Metilciklopropan	Fitoregulator	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Klomekvat klorid	Fitoregulator	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fluroksipir-1-MHE (metil heptil ester)	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Indoksakarb	Insekticid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0
Železov sulfat	Gnojilo, herbicid																
Petoksamid	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Dodin	Fungicid																
Prokinazid	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fenheksamid	Fungicid	++	++	0/+	0/+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Flonikamid	Insekticid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Metosulam	Herbicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	+
Dimetaklor	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tiram	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Klorotoluron	Herbicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Penkonazol	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
R-penkonazol	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
S-penkonazol	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Tiofanat-metil	Fungicid	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Izodecil alkohol etoksilat	Močilo	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Olje na osnovi ovčje maščobe	Odvračalo																
MCPA-DMA	Herbicid																
Karboksin	Fungicid	0/+	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Metrafenon	Fungicid	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Cink fosfid	Rodenticid																
Etoksazol	Akaricid	0	+	0	0	0	0	+	0/+	+	0/+	0	+	0	0/+	0/+	+

REGISTER BIOCIDNIH PROIZVODOV

Kvaterne amonijeve spojine, benzil-C12-16-alkildimetil, kloridi	4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Propan-1-ol	4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Propan-2-ol	4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Didecildimetilamonijev klorid	2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Benzil-C8-18-alkildimetil klorid	2																
Etanol	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Natrijev hipoklorit	4																
Hipoklorna kislina	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D-glukonska kislina	1,2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spojina z N,N'-bis(4-klorofenil)-3,12-diimino- 2,4,11,13-tetraazatetradekandiamidinom	1,2																
Glikolna kislina	4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Zmes 5-kloro-2-metil-2H-izotiazol-3-ona in 2-metil-2H-izotiazol-3-ona in 2-metil-2H-izotiazol-3-ona	6,11,12,13																
5-Kloro-2-metil-2H-izotiazol-3-ona	6,11,12,13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Metil-2H-izotiazol-3-ona	6,11,12,13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Oktil-2H-izotiazol-3-on	13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,2-Benzotiazol-3(2H)-on	6,11,12,13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tetrahidro-1,3,4,6-tetrakis(hidroksimetil)imidazo[4,5-d]imidazol-2,5(1H,3H)-dion	6,11,12,13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bronopol	2,6,11,12	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piridin-2-tiol 1-oksidi, natrijeva sol	13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dietilen glikol	10	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Terbutrin	7	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cinkov pirition	7	+	++	0/+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
3-Jodo-2-propinil butilkarbamit	8,9	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Permetrin	18	0	+	+	+	+	0/+	+	0	+	0/+	0	0	+	+	+	++
N,N'-metilenbismorfolin	13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N-(3-aminopropil)-N-dodecilpropan-1,3-diamin	8	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Etofenproks	8	0	+	++	0/+	0	0/+	+	0	0/+	0	0	0	+	+	0/+	+
Glutaral	2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mlečna kislina	2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Didecildimetilamonijev klorid	2																
Pentakalijev bis(peroksimonosulfat)bis(sulfat)	2																
Ag	2																
Polimerni kvaterni amonijev klorid	2																
Formaldehid	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5-Kloro-2-(4-klorfenoksi)fenol	1	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
D-fenotrin	18	0	+	+	+	+	0/+	+	0/+	+	+	0/+	0/+	+	+	+	++
D-cis-fenotrin	18	0	+	++	+	0	++	+	0	0	0	0	+	+	+	++	+
Vodikov peroksid	11,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Perocetna kislina	11,12	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kvaterne amonijeve spojine, benzilkoalkildimetil, kloridi	11,12																
2,2-Dibromo-2-cianoacetamid	6,11,12	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bromokloro-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-dion	11,12	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Geraniol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Fenoksietanol	1	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Poliheksameten bigvanid (monomer: 1,5-bis(trimetenil)-gvanilgvanidijev monohidroklorid)	1																
Kvaterne amonijeve spojine, benzil-C12-14-alkildimetil, kloridi	2																
Dinatrijev oktaborat tetrahidrat	8																
Bifenil-2-ol	3	+	++	0	0	0	0	+	0	0	0/+	0	0	0	0	+	0/+
Natrijev dikloroizocianurat dihidrat	4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Triklosan natrij	4																
Triklosan	4	0/+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
3,3'-Metilenbis[5-metiloksazolidin]	13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(Etilendioksi)dimetanol	13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Magnezijev monoperoksi ftalat	2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kalcijev hipoklorit																	
Srebrov klorid	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kvaterne amonijeve spojine, benzil-C8-12-alkildimetil kloridi	2																
Simklozen	2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tetrakis(hidroksimetil)fosfonijev sulfat	11,12																
Margosa ekstrakt (aktivna substanca: Azadirachtin)	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Klor dioksid	2,3,4,5,12																
Piperonil butoksid	18	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Tetrametrin	18	+	+	0/+	0	0/+	0/+	+	0/+	0/+	0/+	0	0/+	0	0	+	++
Polimerni bigvanid hidroklorid	18																
Fipronil	18	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Piriprosifen	18	+	+	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	++	++
Ikaridin	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N,N-dietil-m-toluamid	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Benzalkonijev klorid (kot benzalkonium)	2,4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+
Laurilpropilendiamin	2,4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kvaterne amonijeve spojine, benzil-C10-16-alkildimetil, kloridi	2																
2,2',2''-(Heksahidro-1,3,5-triazin-1,3,5-triil)trietanol	13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Imiprotin	18	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Esbiotrin (izomer aletrina)	18	0/+	+	0/+	0	0/+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Transflutrin	18	++	++	++	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	++
Praletrin	18	0/+	++	0/+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Citridiol (komercialno ime za p-Mentan-3,8-diol)	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diuron	7	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5-Dikloro-2-n-oktil-4-izotiazolin-3-on	7	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piretroidi	18																
S-metopren	18	0	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Dimetiloktadecil[3-(trimetoksisilil)propil]amonijev klorid	2																
(Z,E)-tetradeka-9,12-dienil acetat	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Med	19																
Fruktoza (38,2%)	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Glukoza (31,3%)	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Maltoza (7,1%)	19	0/+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sukroza (1,3%)	19	0/+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kvaterne amonijeve spojine - benzil C8-C18 alkildimetilklorid	4																
Diazinon	18	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cis-trikos-9-en	18	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Jod	3																
L-(+)-mlečna kislina	3,4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Etil N-acetil-N-butil-beta-alaninat	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Brodifakum	14	0	0	0/+	++	0	+	0/+	++	++	+	0	0/+	+	0	0	0
Bromadiolon	14	0	0	+	++	0	+	+	+++	++	+	++	+	++	0	0/+	+
Alfa-ciano-3-fenoksibenzil 2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil)	18	0	+	+	0/+	0	0	+	+	+	+	0	0	++	++	+	+

ciklopropankarboksilat																	
Silicijev dioksid	18																
Empentrin	18	0	+	0	0	0	0/+	0/+	0	0	0	0	0	0/+	0	0/+	0/+
D-aletrin	18	0/+	+	0/+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
(-)-Trans-(R)-aletrin	18	0	++	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
(+)-Trans-(R)-aletrin	18	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
(-)-Trans-aletrin	18	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
(-)-Cis-(R)-aletrin	18	0	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
(+)-Cis-aletrin	18	+	++	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
(-)-Cis-aletrin	18	0	+	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Azametifos	18	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Undekan-2-on	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1R-trans fenotrin	18	0	+	++	+	+	+	+	0	+	0	0	0	+	+	++	++
Kvarterne amonijeve spojine, benzil-C12-18- alkildimetil klorid	2																
Kalijev peroksimonosulfat (kot peroksimonosulfat)	2,3,4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Natrijev tozilkloramid (ne v obliki soli)	3,4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Natrijev diklorizocianurat dihidrat	2																
Mravljična kislina	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Klorovodikova kislina	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Butil-benzof[d]izotiazol-3-on	7	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6-(Ftalimido)peroksiheksanojska kislina	2	+	+	0	0	0	0	0/+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
N-Alkilbenzildimetilamonijev klorid (ne v obliki soli)	2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Kreozot (zmes, natančna sestava ni podana)	8																
Borova kislina	8																
Difenakum	14	0	0	0/+	+	0	++	0/+	++	++	+	0/+	++	++	0/+	0/+	0/+
Natrijev bromid (kot HBr)	11,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bromov klorid	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D-trans tetrametrin	18	0/+	++	0	0	+	0	+	0	0/+	0/+	0	0/+	0	0	+	++
Perocetna kislina; nastane in situ. Prekurzor 1 = TAED in prekurzor 2 = Na	2																
Prekurzor 1: TAED (tetraacetilendiamin)	2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aktivni klor: izdelan z reakcijo hipoklorove kisline in natrijevega hipoklorita, izdelanega in situ	2,3,4,5																
Monohidroklorid polimera N,N''-1,6-heksandiilbis[N'-cianogvanidina] (EINECS 240-032-4) in heksametilendiamina (EINECS 204-679-6)/poliheksameten bigvanid (monomer: 1,5-bis(trimetilen)-gvanilgvanidijev monohidroklorid)	1																
N,N''-1,6-heksandiilbis[N'-cianogvanidina]		0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Miristalkonijev klorid	1	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+
Bendiokarb	18	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Gliksal	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N-[[4-klorofenil]amino]karbonil]-2,6-difluorobenzamid	18	+	+++	++	0/+	++	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0/+
Ciflutrin	18	0	+	+	0	0	0/+	+	0/+	+	0/+	0	0	0/+	+	+	++
Benzildodecildimetilamonijev bromid	1,2,3	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dibakrov oksid	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tolilfluamid	21	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Baker	21																
Oksazolidin	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alfa., alfa., alfa."-trimetil-1,3,5-triazin-1,3,5(2H,4H,6H)-trietanol	2,13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bakrov tiocianat	21																
Bakrov pirition	21																
Salicilna kislina	3	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ciromazin	18	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Koruzni storž v prahu (sp niso konkretno definirane)	14																
TCDO kompleks (tetraaklordekaoksidni kompleks)	2																
Diklofluamid	8	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bakrov(II) karbonat-bakrov(II) hidroksid (1:1)	8																
Karbonat		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fenoksikarb	8	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Didecildipolioksetilamonijev borat	8																

Reakcijski produkti: glutaminske kisline in N-(C12-14-alkil)propilendiamina	2																
Glukoprotamin	2																
Oolje sivke (olje sivke vs insekticide)	19																
Linalool	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(-)-Linalool	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(+)-Linalool	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
α -Terpineol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
γ -Terpineol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Borneol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(+)-Borneol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(-)-Borneol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Izoborneol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Terpinen 4-ol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(-)-Terpinen 4-ol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nerol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lavandulol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S-lavandulol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R-lavandulol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Linalil acetat	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R-linalil acetat	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S-linalil acetat	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Geranil acetat	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Neril acetat	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1-Okten-3-il acetat	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lavandulil acetat	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mircene	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
α -Pinen	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
β -Pinen	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kamfen	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(E)- β -Ocimen	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(Z)- β -Ocimen	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
β -Felandren	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eukaliptol	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
β -Kariofilen	19	+	++	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	+
β -Farnesen	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+	0
Germakren	19	+	++	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
α -Humulen	19	0/+	++	0/+	0	+	+	0/+	0	0	0	0	0	0	0	0/+	+
Kafra	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(1S)-Kafra	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-Oktonon	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kripton	19	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Polivinilpirolidon jod	3																
Monomer: vinil pirolidon	3	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kvaterne amonijeve spojine, C12-14-alkil(etilfenil)metil]dimetil, kloridi	4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/+
Klorokrezol	3	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DOSYZON SAURE	5																
DOSYZON OXO	5																
Poli(oksi-1,2-etandil), alfa-[2-(didecilmetilamonio) etil]-omega-Hidroksi-,propanoat	8																
Alfa-[2-(didecilmetilamonio) etil]-omega-hidroksi-,propanoat (sol)	8	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Boraks	18																
Alfakloraloza	14	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,3-Bis(hidroksimetil)-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-dion	6	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Klorfenapir	18	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Troklozen natrij	5	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N,N'-(dekan-1,10-diildi-1(4H)-piridil-4- iliden)bis(oktilamonijev) diklorid	1	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Peroktanojska kislina	2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,3-Dikloro-5,5-dimetilhidantoin	11	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,3-Dikloro-5-etil-5-dimetilimidazolidin-2,4-dion	11	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dekanojska kislina	18	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Oktanojska kislina	18	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(Benziloksi)metanol	6,13	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Di-C8-10 alkildimetil	4																
Kumatetralil	14	+	+++	+++	++	++	+++	+	+	++	+	0/+	+	0	+	++	++
2,2'-Ditiobis[Nmetilbenzamid]	6	0	++	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
Polimer N-Metilmetanamina s (klorometil)-oksiranom	2																

Mecetronijev etil sulfat (ne v obliki soli)	1	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kvaterne amonijeve spojine (benzilalkildimetil (alkil iz C8–C22, nasičen in nenasičen, lojev alkil, kokosov alkil in sojin alkil) kloridi, bromidi ali hidroksidi)	1																
Bis-(Ncikloheksildiazendioksi)-baker	8																
Bis[1-cikloheksil-1,2-di(hidroksi-kappa.O)diazenuumato(2-)]-baker	8																
Flokumafen	14	0	0	++	+++	0	+++	+	+++	++	++	++	+	+++	+	0	0

Priloga 9:

Preglednica XXXIII: Razvrstitev spojin, pri katerih smo dobili pozitivne rezultate.

- **Rdeča barva:** potrjeni, domnevni, možni hormonski motilci z rezultati vezave razvrščene kot (+++) ali (++)
- **Zelena barva:** spojine, za katere še ni podatkov o endokrini disrupciji v literaturi in jih ED razvrsti v skupino spojin z rezultati vezave (+++) in (++)
- **Modra barva:** spojine, ki so si v nasprotju s podatki iz literature in jih ED razvrsti v skupino spojin z rezultati vezave (+++) ali (++)
- **Črna barva:** spojine, pri katerih se rezultati ED ujemajo z rezultati iz literature (pozitivni rezultati)
- **Vijolična barva:** spojine, za katere v literaturi še ni podatkov o endokrini disrupciji
- **Rjava barva:** spojine, kjer so napovedi ED o interakciji z obravnavanimi receptorji v nasprotju z rezultati iz literature

Spojine, pri katerih smo dobili pozitivne rezultate, ki so si v nasprotju s podatki iz literature.	Spojine, za katere v literaturi še ni podatkov o ED.	Spojine, pri katerih se rezultati iz literature ujemajo z rezultati, ki smo jih dobili s programom Endocrine disruptome.	Spojine, pri katerih smo dobili pozitivne rezultate (+++) ali (++)	Potrjeni/domnevani/možni ED z rezultati (+++) ali (++)
Metsulfuron-metil	Izoksafutol	Dimetomorf	Dimetomorf	Dimetomorf
Klofentezin	Tienkarbazon	Pendimetalin	Izoksafutol	Metaflumizon
Florasulam	Propakvizafop	Ciprokonazol	Tienkarbazon	Beta-ciflutrin
Bentazon	Nikosulfuron	Metaflumizon	Diflufenikan	Metkonazol
Boskalid	Diflufenikan	Tepraloksidim - izomer	Metaflumizon	Giberelinska kislina (GA3)
Piraklostrobin	Mesosulfuron	Propikonazol	Fenpropidin	Alfa-cipermetrin
Metamitron	Rimsulfuron	Karbendazim	Mezotrin	Teflutrin
Prosulfuron	Iodosulfuron metil	Etofumesat	Tritosulfuron	Fludioksonil
Kklorantraniliprol	Zoksamid	Etofumesat S	Florasulam	Oksifluorfen
Fenpropimorf	Alfanaftil acetamid (NAD)	Tiakloprid	Fenmedifam	Fluazinam
Ciprodinil	Fenpropidin	Bromoksanil oktanoat	Boskalid	Flutriafol
Difenokonazol	Mezotrin	Beta-ciflutrin	Piretrin 1	Lambda cihalotrin
Valifenalat	Tritosulfuron	Metribuzin	Beta-ciflutrin	Cihalotrin
Ametoktradin	Propoksikarbazon	S-metolaklor	Metkonazol	Fenheksamid
Benlaksil - M	Pinoksaden	Klomazon	Fenpropimorf	Tau-fluvalinat
Pelargonska kislina	Desmedifam	Flukvinkonazol	Kvinoksifen	Epoksikonazol
Malein hidrazid	Fenmedifam	Pirimetanil	Ciflufenamid	N-[[[(4-klorofenil)amino]karbonil]-2,6-difluorobenzamid
Metalaksil-M	Piretrin 1	Deltametrin	Famoksadon	Flufenacet
Fluazifop-p-butil	Piretrin 2	2,4-D2-EHE	Giberelinska kislina (GA3)	Flurokloridon
Fluroksipir	Piretrin 2, R-izomer	Permetrin	Alfa-cipermetrin	Permetrin
Mandipropamid	Piretrin 2, S-izomer	Tebukonazole	Teflutrin	Etofenproks
Dimetenamid-p	Metazaklor	Triadimenol	Fluazinam	D-fenotrin
Glifosat	Olje navadne ogrščice (erucic acid)	Alfa-cipermetrin	Fludioksonil	Bifenil-2-ol

Propamokarb	Tiabendazol	Fluazinam	Oksifluorfen	Tetrametrin
1-Tetradekanol	Pimetrozin	Teflutrin	Beflubutamid	Piriproksifen
Dodekan-1-ol	Ciflufenamid	Fluazifop-p-butil	Flutriafol	Ciflutrin
Meptildinokap	Imazamoks	Oksifluorfen	Fluopikolid	
Piridat	Kvinmerak	Tribenuron-metil	Lambda cihalotrin	
Klopuralid	Krezoksim-metil	Izoproturon (anti AR)	Cihalotrin	
Tebufenpirad	Imidaklopid	Flutriafol	Fluopiram	
Iprovalikarb	Kvinoksifen	Fenbuconazole	Tebufenpirad	
Kaptan	Metil oleat	Lambda cihalotrin	Tau-fluvalinat	
Metiokarb	Ditianon	Cihalotrin	Iprovalikarb	
Ciazofamid	Tetrakonazol	Propizamid	Giberelini(A4 in A7):A4	
Pirimikarb	Napropamid	Protiokonazol	Giberelini(A4 in A7):A7	
Fenpirazamin	Folpet	Tau-fluvalinat	Epoksikonazol	
Proheksadion	Famoksadon	Miklobutamil	Flufenacet	
Klorpirifos-metil	Foramsulfuron	Klorprofam	Flurokloridon	
1-Metilciklopropen	6-Benziladenin	Prokloraz	Fenheksamid	
Klomekvat klorid	Spiroksamine	Epoksikonazol	Cinkov pirition	
Fluroksipir-1-MHE (metil heptil ester)	Trifloksistrobin	Dimetoat	Permetrin	
Indoksakarb	Cikloksidim	Flufenacet	Etofenproks	
Klorotoluron	Amidosulfuron	Klorpirifos	D-fenotrin	
Metrafenon	Beflubutamid	Flurokloridon	Bifenil-2-ol	
Etanol	Fluopikolid	Iprodion	Tetrametrin	
Glutaral	Pyriofenone	Metoksifenoimid	Piriproksifen	
Perocetna kislina	Tembotriin	Tiram	Translutrin	
Ikaridin	Tiasulfuron	Penkonazol	Pralettrin	
S-metopren	Fluopiram	Tiofanat-metil	Brodifakum	
Brodifakum	Trineksapak-etil	Terbutrin	Bromadiolon	
Azametifos	Kvinoklamin	Etofenproks	Alfa-ciano-3-fenoksibenzil 2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciklopropankarboksilat	
	Heksatiazoks	D-fenotrin	Difenakum	
Oktanojska kislina	Giberelini(A4 in A7):A4	Bifenil-2-ol	N-[[[(4-klorofenil)amino]karbonil]-2,6-difluorobenzamid	
	Giberelini(A4 in A7):A7	Triklosan	Ciflutrin	
	Di-1-p-menten	Piperonil butoksid	β - Kariofilen	
	Fenpiroksimat	Tetrametrin	Germakren	
	Piroksulam	Fipronil	α - Humulen	
	IBA (indol-3-butirna kislina)	Piriproksifen	Kumatetralil	
	Kvizalofop-p-etil	Diuron	2,2'-Ditiobis[Nmetilbenzamid]	
	Triflusufluron-metil	Diazinon	Flokumafen	
	Tritikonazol	D-aletrin		
	Petoksamid	Ciflutrin		
	Prokvinazid	Tolilfluamid		
	Flonikamid	Fenoksikarb		
	Metosulam	Klorokrezol		
	Dimetaklor	Klorfenapir		
	Izodecil alkohol etoksilat	Giberelinska kislina (GA3)		
	Karboksin	Metkonazol		
	Etoksazol	Fludioksonil		
	Propan-1-ol	Fenheksamid		
	Propan-2-ol	N-[[[(4-klorofenil)amino]karbonil]-2,6-difluorobenzamid		
	Didecildimetilamonijev klorid			
	D-glukonska kislina			
	Glikolna kislina			
	5-Kloro-2-metil-2H-			

izotiazol-3-ona
2-Metil-2H-izotiazol-3-ona
2-Oktil-2H-izotiazol-3-on
1,2-Benzizotiazol-3(2H)-on
Tetrahidro-1,3,4,6-tetrakis(hidroksimetil)imidazo[4,5-d]imidazol-2,5(1H,3H)-dion
Bronopol
Oiridin-2-tiol 1-oksid, Natrijeva sol
Dietilen glikol
Cinkov pirition
3-Jodo-2-propinil butilkarbamat
N,N'-metilenbismorfolin
N-(3-aminopropil)-N-dodecilpropan-1,3-diamin
Mlečna kislina
5-Kloro-2-(4-klorfenoksi)fenol
2,2-Dibromo-2-cianoacetamid
Bromokloro-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-dion
Geraniol
2-Fenoksietanol
Natrijev dikloroizocianurat dihidrat
3,3'-Metilenbis[5-metiloksazolidin]
(Etilendioksi)dimetanol
Magnezijev monoperoksi ftalat
Simklozen
N,N-dietil-m-toluamid
Benzalkonijev klorid (kot benzalkonium)
Laurilpropilendiamin
Kvaterne amonijeve spojine, benzil-C10-16-Alkildimetil, kloridi
2,2',2''-(Heksahidro-1,3,5-triazin-1,3,5-triil)trietanol
Transflutrin
Praletrin
Citriodiol (komercialno ime za p-Mentan-3,8-diol)
4,5-Dikloro-2-n-oktil-4-Izotiazolin-3-on
(Z,E)-tetradeka-9,12-dienil acetat
Fruktoza
Glukoza
Maltoza
Sukroza
Cis-trikos-9-en
Etil N-acetil-N-butil-beta.-alaninat
Bromadiolon
Alfa-ciano-3-fenoksibenzil 2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil)
ciklopropankarboksilat
Kalijev peroksimonosulfat (kot

peroksimonosulfat
Undekan-2-on
Natrijev tozilkloramid (ne v obliki soli)
2-Butil- benzo[d]izotiazol-3-on
6- (Ftalimido)peroksiheks anojska kislina
N- alkilbenzildimetilamoni jev klorid (ne v obliki soli)
Difenakum
N,N''-1,6- heksandilbis[N'- cianogvanidina]
Miristalkonijev klorid
Bendiokarb
Benzildodecildimetilam onijev bromid
Alfa., alfa.', alfa."- trimetil-1,3,5-triazin- 1,3,5(2H,4H,6H)- Trietanol
Salicilna kislina
Ciromazin
Diklofluamid
Linalool
α -Terpineol
γ -Terpineol
Borneol
Izoborneol
Terpinen 4-ol
Nerol
Linalil acetat
Geranil acetat
Neril acetat
1-Okten-3-il acetat
Lavandulil acetat
Mircene
α -Pinen
β -Pinen
Kamfen
(E)- β -Ocimen
(Z)- β -Ocimen
β -Felandren
Eukaliptol
β-Kariofilen
β -Farnesen
Germakren
α -Humulen
Kafra
3-Okтанон
Kripton
Monomer: vinil pirolidon
Kvaterne amonijeve spojine, C12-14- alkil[(etilfenil)metil]di metil, kloridi
Alfa-[2- (didecilmetilamonio) etil]-omega-hidroksi-, propanoat
Alfakloraloza
1,3-Bis(hidroksimetil)- 5,5- dimetilimidazolidin- 2,4-dion
Troklozen natrij
N,N'-(dekan-1,10- diildi-1(4H)-piridil-4- iliden)bis(oktilamonijev) diklorid
Peroktanojska kislina

1,3-Dikloro-5,5-dimetilhidantoin
1,3-Dikloro-5-etil-5-dimetilimidazolidin-2,4-dion
Dekanojska kislina (Benziloksi)metanol
Kumatetralil
2,2'-Ditiobis[Nmetilbenzamid]
Mecetronijev etil sulfat
Flokumafen
