

**Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni**

Disertační práce

Plzeň, 2022

Ing. Tereza Fenclová

**Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni**

Studijní program: Anatomie, histologie a embryologie

Vliv vybraných environmentálních polutantů na gametogenezi a časný
embryonální vývoj

The influence of selected environmental pollutants on gametogenesis and
early embryonic development

Disertační práce

Školitel: Doc. Ing. Jan Nevoral, Ph.D.

Plzeň, 2022

Ing. Tereza Fenclová

Abstrakt

Idiopatická infertilita je vážným problémem dnešní doby, který může být způsoben expozicí endokrinními disruptory, mezi které patří bisfenoly. Bisfenol A, nejvíce používaný bisfenol, je nyní kvůli prokázané toxicitě nahrazován ve výrobních procesech svými analogy, bisfenolem S a F. Zatímco většina prací se zabývá vlivem toxických dávek po přímé expozici, tato studie přináší výsledky pro expozici reálnými nízkými dávkami po přímé i nepřímé expozici. Předpokládali jsme negativní vliv přímé i nepřímé expozice nízkými dávkami alternativních bisfenolů BPS a BPF na samčí i samičí reprodukci na úrovni gamet a embryí. Cílem práce je zhodnotit vliv přímé expozice na myší oocyty a spermie, zhodnotit vliv nepřímé expozice prostřednictvím mateřského mléka na myší oocyty, spermie, testikulární tkáň a přesah poškození do časného embryonálního vývoje. Pokusné laboratorní myši kmene ICR byly vystaveny nízkým dávkám bisfenolů přímo prostřednictvím pitné vody nebo orální sondy, anebo nepřímo prostřednictvím mateřského mléka. Přímá expozice nízkými dávkami bisfenolů ovlivnila reprodukční schopnosti samic zejména malformacemi dělicího vřeténka oocytů, snížením stability genomu a epigenetickými modifikacemi během meiotického zrání oocytů. Podobné projevy byly pozorovány i u expozice nepřímé prostřednictvím mateřského mléka. Byl pozorován zvýšený výskyt malformací dělicího vřeténka oocytů, pokles markerů heterochromatinu a zhoršení vývojové kompetence oocytů. U samců dochází při přímé expozici ke snížení motility spermií, nárůstu acetylace proteinů spermií a zvýšenému výskytu dvouřetězcových zlomů DNA v testikulární tkáni. Nepřímá expozice prostřednictvím mateřského mléka u samců zvyšuje výskyt dvouřetězcových zlomů DNA ve spermiích, a toto poškození je přenášeno po oplození do zygot a následně blastocyst. Výsledky naznačují, že možným mechanismem negativního účinku je poškození hemotestikulární bariéry a následně spermiogeneze. Tyto výsledky poukazují na fakt, že alternativní bisfenoly nejsou bezpečnou náhradou, a tak i tyto bisfenoly jsou příčinou idiopatické neplodnosti u obou pohlaví. Mimoto naše práce přináší poznatky o určení kvality gamet a mechanismech, které předurčují úspěšnost časného embryonálního vývoje.

Summary

Idiopathic infertility is a serious problem, which can be caused by exposure to endocrine disruptors, *e.g.* bisphenols. Bisphenol A, the most widely used bisphenol, is now being replaced in manufacturing processes due to its toxicity by its analogues, bisphenol S and F. While most of the scientific experiments examine the effect of toxic doses after direct exposure, this study provides results for exposure to real low doses after direct and indirect exposure. We assumed a negative effect of direct and indirect exposure to low doses of alternative bisphenols BPS and BPF on male and female reproduction at the level of gametes and embryos. The aim of this work is to evaluate the effect of direct exposure to mouse oocytes and sperm, to evaluate the effect of indirect exposure through breast milk to mouse oocytes, sperm, testicular tissue and the extent of damage to early embryonic development. Experimental ICR laboratory mice were exposed to low doses of bisphenols directly *via* drinking water or an oral gavage, or indirectly through the breast milk. Direct exposure to low doses of bisphenols affects the reproductive abilities of females mainly by malformations of the dividing spindle of oocytes, reduced genome stability and epigenetic modifications during meiotic maturation of oocytes. Similar manifestations are observed with indirect exposure via breast milk, such as increased oocyte's dividing spindle malformations, decreased markers of heterochromatin, and decreased developmental competence of oocytes. In males, direct exposure reduces sperm motility, increases protein acetylation and increases DNA double-stranded breaks in testicular tissue. Indirect exposure via breast milk increases the incidence of DNA double-stranded breaks in spermatozoa, and this damage is transmitted by fertilization to zygotes and subsequently to blastocysts. The results indicate that the possible mechanism of the negative effect is damage to the hemotesticular barrier and subsequently spermiogenesis. These results also indicate, that alternative bisphenols are not safe replacement and can be a cause of idiopathic infertility in both sexes. In addition, our work provides knowledge about the quality of gametes and the mechanisms that determine the success of early embryonic development.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 30.6.2022

TEREZA FENCLOVÁ

Obsah

Seznam použitých zkratek a symbolů.....	8
1 Úvod	10
2 Literární rešerše	11
2.1 Primordiální zárodečné buňky	11
2.2 Oogeneze	12
2.2.1 Fáze množení oogonií.....	12
2.2.2 Fáze růstu oocytů.....	13
2.2.3 Fáze meiotického zrání	15
2.3 Spermatogeneze	16
2.3.1 Fáze množení spermatogonií	16
2.3.2 Fáze meiotického dělení	18
2.3.3 Spermioogeneze.....	18
2.4 Endokrinní disruptory	21
2.4.1 Bisfenoly	22
2.4.2 Bisfenol S.....	23
3 Hypotéza a cíle práce.....	25
3.1 Hypotéza	25
3.2 Cíle práce	25
4 Materiál a metodika	26
4.1 Etické zásady	26
4.2 Chemikálie.....	26
4.3 Experimentální zvířata a chovné podmínky	26
4.4 Přímá expozice.....	27
4.4.1 Přímá expozice samců	27
4.4.2 Přímá expozice samic	27

4.5 Expozice mateřským mlékem.....	27
4.6 Izolace oocytů a jejich <i>in vitro</i> maturace.....	28
4.6.1. Izolace zralých oocytů.....	28
4.7 Partenogenetická aktivace oocytů.....	29
4.8 Výplach embryí a jejich <i>in vitro</i> kultivace.....	29
4.9 Analýza spermií.....	29
4.10 Test struktury chromatinu spermií (SCSA).....	30
4.11 Elektroforéza (ELFO) a Western Blot (WB).....	30
4.12 Histologie.....	31
4.13 Imunofluorescence.....	31
4.14 Imunocytochemie.....	32
4.15 Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick End Labeling (TUNEL)	33
4.16 Statistické vyhodnocení.....	33
5 Výsledky.....	34
5.1 Přímá expozice nízkými dávkami BPS ovlivňuje kvalitu myších oocytů.....	34
5.2 Nízké dávky BPS ovlivňují kvalitu myších spermií prostřednictvím post- translačních modifikací proteinů.....	35
5.3 Expozice bisfenoly prostřednictvím mateřského mléka jako možná příčina idiopatické neplodnosti samic.....	37
5.4 Idiopatická infertilita samců způsobená expozicí bisfenolů prostřednictvím mateřského mléka.....	39
5.5 Idiopatická infertilita je způsobená vlivem BPS na testikulární tkáň.....	41
6 Diskuse.....	43
7 Závěr.....	49
8 Seznam literatury.....	51
9 Přílohy.....	90

Seznam použitých zkratek a symbolů

8OHdG	8-hydroxy-2'-deoxyguanosin
BPA	Bisfenol A
BPF	Bisfenol F
BPS	Bisfenol S
BRDT	Bromdomain testis associated proteins
BSA	Bovinní sérový albumin
CX43	Connexin 43
DAPI	4',6-Diamidin-2-fenylindol
DES	Diethylstilbestrol
DFI	Index fragmentace DNA
EDs	Endokrinní disruptory
ELFO	Elektroforéza
FSH	Folikulostimulační hormon
GV	Zárodečný váček
GVBD	Rozpad zárodečného váčku
γ H2AX	Fosforylace histonu H2A
H3K27me2	Dimetylace histonu 3 na lysinu K27
H3K4me2	Dimetylace histonu 3 na lysinu K4
HDS	Vysoká barvitelnost DNA
hCG	Lidský choriový gonadotropin
HSP90	Heat shock protein 90
IBMX	3-isobutyl-1-metylxanthin
LH	Luteinizační hormon
MI	Metafáze 1. meiotického dělení
MII	Metafáze 2. meiotického dělení
MALDI-TOF	Matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight
MSCI	Meiotická inaktivace pohlavních chromozómů
Nano-LC-MS	Nano-liquid chromatografie-MS
NGS	Normal goat serum

NSN	Non-surrounded nucleolus
OCL11	Occludin 11
PBS	Fosfátový pufr
PGCs	Primordial germ cells
PMSG	Pregnant mare's serum gonadotropin
PNA	Peanut agglutinin
PND	Postnatální den
PRDX6	Peroxiredoxin 6
PRM1	Protamin 1
PRM2	Protamin 2
PTMs	Posttranslační modifikace
qRT-PCR	Kvantitativní polymerázová řetězová reakce
SN	Surrounded nucleolus
TNP1	Přechodný protein 1
TNP2	Přechodný protein 2
TUNEL	Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick End Labeling
WB	Western Blot
ZO1	Zonula occludens 1

1 Úvod

Infertilita, tedy neplodnost, je v dnešní době problémem až 15% párů snažících se o početí (Bracke et al. 2018), kdy mužská a ženská infertility je v populaci zastoupena rovnoměrně (Szkodziak et al. 2020). U 30 – 40 % případů infertility u mužů je etiologie nejasná, jedná se tedy o idiopatickou infertility (Bracke et al. 2018). U žen se diagnóza idiopatické infertility vyskytuje u více než 25 % případů (Klein et al. 2021).

Zvažovanou příčinou idiopatické infertility jsou environmentální kontaminanty s estrogení aktivitou (Shi et al. 2017), které tak lze označit za endokrinní disruptory. Hojně využívanou skupinou látek jsou bisfenoly (Glausius 2014; Eladak et al. 2015; Rahman et al. 2015), běžně používané k výrobě plastických hmot, papíru, plechovek a dalších produktů denní spotřeby (Simoneau et al. 2011a; Wong a Durrani 2017a). Dříve nejvíce rozšířený a používaný bisfenol A (BPA) je v dnešní době kvůli prokázané toxicitě i v nízkých dávkách (Eladak et al. 2015; Vandenberg et al. 2012b) nahrazován svými analogy, zejména bisfenolem S (BPS) a F (BPF) (Eladak et al. 2015; Shi et al. 2019b). Skutečnost, že se alternativní bisfenoly staly rychle náhradou BPA bez znalosti biologických účinků, nás vedla k experimentům, které simulovaly reálnou expozici v lidské populaci.

Bisfenoly se do lidského těla dostávají přímo konzumací jídla z plechovek a pitím vody z plastových lahví (Shi et al. 2019b). Velmi často je tato expozice soustavná a dlouhodobá. Neméně významný dopad na lidské zdraví lze pozorovat i u expozice nepřímé, například prostřednictvím mateřského mléka v období mléčné výživy po narození (Nevoral et al. 2021; Fenclová et al. 2022). V této práci se věnuji vlivu přímé i nepřímé expozice alternativními bisfenoly na reprodukční schopnosti samic i samců myši. Reprodukční schopnosti jsou měřeny kvalitou gamet a následně také jejich vývojovou kompetencí, tedy úspěšností časného embryonálního vývoje. Předložené komentované studie tedy přináší nejen poznatek negativního vlivu alternativních bisfenolů BPS a BPF, ale zejména popis mechanismu negativních účinků endokrinních disruptorů ve velmi nízkých dávkách. Téma environmentálních polutantů je v dnešní době rapidního nárůstu idiopatické infertility a subfertility v populaci velmi významné, a tak jsou předkládané práce robustním základem pro svědomité hodnocení látek s potenciálem endokrinní disrupce.

2 Literární rešerše

2.1 Primordiální zárodečné buňky

Oocyty, i spermie mají společný původ v prvopohlavních zárodečných buňkách (PGCs = primordial germ cells) vznikajících v období časného vývoje embrya. Nejprve dochází v proximálním epiblastu embrya k selekci potenciálních prekurzorů zárodečných buněk, které pasivně migrují ke stěně žloutkového váčku a začleňují se mezi entodermové buňky v blízkosti *allantois*, kde dochází k další vlně molekulární selekce, po níž zůstávají buňky, které lze definovat jako PGCs. Takto vzniklé PGCs je možno prvně detekovat ve 24. dni po oplození (Bukovsky et al. 2005; Ginsburg et al. 1990). Buňky dále migrují améboidními pohyby dorsálním mesenteriem zadního střeva a začátkem 6. týdne od oplození osidlují párové základy budoucích gonád, tj. genitální lišty (Fujimoto et al. 1977; Kurilo 1981; Picton et al. 1998; Richardson a Lehmann 2010), které vznikají z intermediárního mezodermu (Bowles a Koopman 2007). Během migrace začínají PGCs proliferovat a množí se i během kolonizace primitivní gonády (Baker 1963), díky jejich schopnosti reagovat na chemokiny, které jsou vylučovány genitálními lištami. Tyto chemotaktické podněty tedy nejen že navádějí PGCs při jejich cestě, ale zároveň ovlivňují i jejich mitotickou aktivitu. PGCs díky chemokinům mění také svůj tvar a snižuje se jejich pohyblivost (Van Den Hurk a Zhao 2005), kterou ztrácí při usídlení v genitální liště (Picton et al. 1998). U myši je tento proces úměrný kratší délce života zvířete, kdy se PGCs začínají vyvíjet 6. den po oplození, migrují od 8. dne a kompletně osídlí genitální lišty během 10. dne po oplození (Saitou a Yamaji 2012). Následný vývoj PGCs do oocytů či spermií je určen pohlavními chromozómy somatických buněk genitální lišty (Morgan et al. 2005; De Felici 2013).

2.2 Oogeneze

Oogeneze označuje složitý děj vývoje zralých oplozeníschopných oocytů z PGCs. Proces oogeneze začíná v časné fázi prenatalního vývoje a je rozdělen do tří fází: fáze množení, fáze růstu a fáze meiotického zrání (Wassarman a Albertini, 1994).

2.2.1 Fáze množení oogonií

Vývoj oocytů začíná během prenatalního období, kdy se díky anti-Mülleriánskému hormonu začíná vyvíjet samičí pohlavní ústrojí. PGCs se diferencují v oogonie (De Felici 2013; Adhikari a Liu 2013; Findlay et al. 2009), které se u myši začínají mitoticky dělit již 11. den po oplození a nejvyšší mitotické aktivity dosahují 13. den. O den později je mitotická aktivita oogonií ukončena (Ewen a Koopman 2010).

V roce 1921 (Pearl a Schoppe, 1921) ustanovili, že počet oogonií je ve vaječniku po tomto prenatalním mitotickém dělení konečný. Toto tvrzení bylo ustanoveno jako dogma v roce 1951 (Zuckerman, 1951), kdy byla vyloučena existence jakýchkoli kmenových buněk podílejících se na obnově oogonií. V roce 2004 byla publikována převratná studie vyvracející toto zažité dogma (Johnson et al. 2004), kde autoři prohlašují, že omezené množství PGCs přetrvává ve tkáni vaječniku do dospělosti samice, kdy slouží jako zdroj oogonií i v dospělém věku. Johnson et al., 2005 ve své další studii popisují kostní dřev jako potenciální zdroj těchto zárodečných buněk pro obnovu oogonií. Další teorie ustanovuje průběh obnovy oogonií díky přetrvávající přítomnosti primordiálních kmenových buněk na vaječnicích, čímž je kompenzována atrézie folikulů a tím pádem je zajištěno jejich relativně stálé množství v průběhu reprodukčního věku samice (Bukovsky et al. 2004).

Po fázi intenzivního mitotického dělení, kdy oogonie finálně replikují svou DNA, jsou obaleny vrstvou pregranulóznicích buněk a jsou dále nazývány oocyty, je asynchronně zahájeno meiotické zrání. Meiotické dělení je zablokováno v diplotene profáze 1. meiotického dělení (Wassarman, 1988), v takzvaném prvním meiotickém bloku, který přetrvává až do puberty (Tripathi et al. 2010) (Detlaf et al., 1988; Chian et al., 2004). Zárodečné buňky v 1. meiotickém bloku se nazývají primární oocyty ve stádiu zárodečného váčku (GV = germinal vesicle) (Hunt a Hassold 2008; Wassarman a Albertini, 1994).

Společně s vývojem oogonií v GV se vyvíjí též folikuly, ve kterých jsou zárodečné buňky uloženy. Ve folikulu jsou oogonie v poslední fázi mitotického dělení obaleny pregranulózními buňkami za vzniku primordiálních folikulů, ve kterých oocyty zahajují meiózu. Pregranulózní buňky se začínají mitoticky dělit a diferenciovat v granulózní buňky. Vrstva granulózních buněk přímo obklopující oocyt se v pozdějších stádiích folikulogeneze diferencuje v tzv. kumulární buňky, tvořící *cumulus oophorus*, včetně *corona radiata*. Tyto buňky komunikují s oocytem prostřednictvím výběžků prostupujících *zonu pellucidu* a buněčných spojů typu gap junction (Brower a Schultz 1982; Wassarman, 1988).

2.2.2 Fáze růstu oocytů

Aby bylo možné obnovit meiotickou aktivitu, musí oocyt prodělat kvalitativní i kvantitativní změny organel a biochemické změny v cytoplazmě (Eppig et al. 1996; Hyttel et al. 1997). Tato fáze růstu je zahájena v pubertě, avšak ne všechny oocyty zahajují růstovou fázi současně. V každém menstruačním cyklu podléhá růstu jen část ze zásoby oocytů ve vaječniku.

Fáze růstu je definována aktivní proteosyntézou oocytu, modifikacemi a syntézou organel, což vede k jeho mnohonásobnému zvětšení (Eppig et al. 1996; Matzuk et al. 2002; Telfer a McLaughlin 2011). Dochází ke zvýšené syntéze mRNA a rRNA, způsobující zvětšení jádra oocytu, zatímco jadérko nabývá kompaktnější podoby. Akumulace většího množství rRNA způsobuje zvýšení počtu ribozómů (Picton et al. 1998; Van Den Hurk a Zhao 2005; Wassarman a Albertini, 1994). Intenzivní proteosyntéza má za následek zvětšení objemu endoplazmatického retikula a Golgiho komplexu (Oakberg 1968; Wassarman a Albertini, 1994), jehož struktury jsou přesunuty na periferii buňky k plazmatické membráně, kde se aktivně podílejí na formování kortikálních granul a vzniku glykoproteinového obalu oocytu – *zona pellucida* (Mehlmann et al. 1995; Van Den Hurk a Zhao 2005), která představuje přirozenou bariéru mezi oocytem a kumulárními buňkami, ale zároveň umožňuje jejich komunikaci (Kanitz et al. 2001) (Yanagimachi, 1998). Tato komunikace je důležitá pro koordinaci růstu a zrání oocytu (Eppig 2018; Kanitz et al. 2001; Soyal et al. 2000; Wassarman a Albertini, 1994). Proces růstu oocytů je energeticky velmi náročný, proto dochází také k výraznému zvýšení počtu mitochondrií a změně tvaru

mitochondriálních krist. Mitochondrie jsou v buňce lokalizovány hlavně v blízkosti plazmatické membrány (Picton et al. 1998; Wassarman a Albertini, 1994).

Všechny tyto změny jsou nezbytné pro další zrání oocyty a zároveň jsou naprosto esenciální pro úspěšný časný embryonální vývoj před reaktivací embryonálního genomu (Schultz et al. 1979; Wassarman a Albertini, 1994). Cílem fáze zrání je získání meiotické kompetence, která umožňuje oocyty vystoupit z 1. meiotického bloku a dokončit meiózu až do metafáze 2. meiotického dělení (MII), kde nastává 2. meiotický blok (Motlik et al. 1984).

Získání meiotické kompetence je výsledkem úspěšné růstové fáze a dosažení plné velikosti oocyty, nasyntetizování dostatečného množství materiálu pro pozdější meiotické zrání a časný embryonální vývoj. Některé oocyty mohou však nabývat částečné meiotické kompetence v průběhu fáze růstu, kdy ještě nedosáhly finální velikosti. Tyto oocyty jsou schopny vystoupit z 1. meiotického bloku a znovuzahájit meiózu, kterou ovšem nedokončí až do 2. meiotického bloku, nýbrž zastaví dělení v metafázi 1. meiotického dělení (MI) (Yanagimachi, 1988). Částečně meioticky kompetentní oocyty jsou kromě menší velikosti typické tím, že chromatin jádra je dekonzenzovaný a rozptýlený v celé nukleoplazmě za dobré viditelnosti jádérka. Tyto oocyty jsou označovány jako oocyty s neohrazeným jádérkem (NSN = non surrounded nucleolus). Při dosažení plné meiotické kompetence dochází ke kondenzaci chromatinu, který současně vytváří prstenec okolo jádérka. Tyto oocyty jsou označovány jako oocyty s ohraničeným jádérkem (SN = surrounded nucleolus) (Fulka Jr. et al. 1981).

Rozměry oocyty odpovídají jednotlivým stupňům meiotické kompetence. Myší oocyty velikosti do 40 μm jsou meioticky nekompetentní, při velikosti 40–60 μm nabývají částečné meiotické kompetence a plně meioticky kompetentní jsou při velikosti 60 μm , kdy ještě nemají ohraničené jádérko (NSN) a stále probíhá intenzivní proteosyntéza. Plně dorostlé myší oocyty dosahují velikosti 83–90 μm a již se vyznačují ohraničeným jádérkem (SN) (Wassarman a Josefowicz 1978). Při dosažení plné velikosti se oocyt stává transkripčně neaktivním (Picton et al. 1998; Wasserman a Albertini, 1994).

2.2.3 Fáze meiotického zrání

Těsně před ovulací obnovují savčí oocyty, které dosáhly meiotické kompetence ve fázi růstu, meiotické dělení. Meiotickým zráním se z dorostlého oocytu ve stádiu GV stává zralý, oplození schopný oocyt. Pro výstup oocytu z 1. meiotického bloku a znovuzahájení meiózy je charakteristický proces rozpadu zárodečného váčku (GVBD = germinal vesicle breakdown). Tento proces je *in vivo* aktivován hormonální stimulací působením gonadotropinů – folikuly stimulujícího hormonu (FSH) a luteinizačního hormonu (LH). Hormonální stimulace potlačuje inhibiční faktory odpovědné za setrvání oocytu v 1. meiotickém bloku – cAMP (cyklický adenosin monofosfát) a PKA (cAMP-dependentní kináza) v kumulárních buňkách folikulu a v oocytu (Eppig 1991).

Po GVBD oocyt vstupuje do metafáze 1. meiotického dělení, jehož výsledkem je vydělení prvního pólového tělíska (Motlík a Fulka 1976). Následuje 2. meiotické dělení až do metafáze II, kdy je fáze zrání přerušena 2. meiotickým blokem (Tripathi et al. 2010; Detlaf et al. 1988; Dermatas et al. 2010; Mehlmann, 2013; Yamaginachi, 1988).

Zralý oocyt většiny savců včetně myši a člověka je ovulován ve stádiu MII a pokud dojde k oplození, je dokončeno 2. meiotické dělení zakončené vydělením 2. pólového tělíska (Amdani et al. 2015; Georgadaki et al. 2016; Ohto et al. 2016; Yeste et al. 2017). V *in vitro* podmínkách dosahují myší oocyty 1. meiotického bloku po 8 hodinách a 2. meiotického bloku po 16 hodinách kultivace (Cavalera et al. 2019; Nevoral et al. 2018a). *In vitro* zrání oocytu je tak vhodným nástrojem pro určení meiotické kompetence GV oocytu, umožňující rovněž hodnocení kvality oocytů získaných z přirozeného estrálního cyklu bez hormonální stimulace.

2.3 Spermatogeneze

Spermatogeneze je proces proliferace a diferenciaci spermatogonií do zralých a oplození schopných spermií v prostředí semenotvorných kanálků varlete. Stejně jako oogenie, spermatogonie se také vyvíjejí z PGCs prenatalně v důsledku působení anti-Mülleriánského hormonu a následně testosteronu (Miller a Auchus 2011). Celý proces spermatogeneze může být rozdělen do tří fází: multiplikace spermatogonií mitotickým dělením, meiotické dělení spermatocytů za vzniku kulovitých spermatid (Holstein et al. 2003; Griswold 2016; Cheng et al. 2008), a spermiogeneze, neboli proces přeměny kulovitých spermatid do spermií (Kretser et al. 1998).

2.3.1 Fáze množení spermatogonií

PGCs se po migraci do genitálních lišt začleňují mezi mezenchymální buňky, které jsou u samců prekurzorem Sertoliho buněk, čímž se vytváří semenotvorné provazce, předchůdci semenotvorných kanálků (Kretser et al. 1998). PGCs se diferencují v gonocyty (Clermont a Leblond 2010), které lze kategorizovat na mitoticky aktivní M-prospermatogonie, dále T1-prospermatogonie a T2-prospermatogonie (McCarrey, 1993). M-prospermatogonie jsou lokalizované centrálně v semenotvorných provazcích a aktivně se mitoticky dělí, než dosáhnou dalšího diferenciačního stadia. T1-prospermatogonie vstupují do G0 mitotického bloku (McLaren 2003). Během prvního týdne *post partum* T1-prospermatogonie obnovují svou mitotickou aktivitu, diferencují se v T2-prospermatogonie a migrují v semenotvorných kanálcích k bazální membráně (Clermont and Perey, 1957). T2-prospermatogonie, které kolonizovaly bazální membránu, se mitoticky dělí a vytváří počáteční skupinu spermatogonií, které udržují spermatogenezi po celý postpubertální život (Yoshida et al. 2006; Kluijn a de Rooij 1981; McCarrey 1993).

Další proces vývoje spermatogonií se druhově liší. U myši a dalších hlodavců, se spermatogonie na bazální membráně se označují jako A single spermatogonie (A_s spermatogonie) (Huckins a Oakberg 1978; 1978) a dále se mitoticky dělí v párové spermatogonie ($A_{paired} = A_{pr}$ spermatogonie). A_{pr} spermatogonie buď dokončí cytokinezi za vzniku dvou nových A_s spermatogonií (obnova kmenových buněk), nebo zůstanou spojené

intracytoplazmatickým můstkem a produkují řetězec čtyř $A_{aligned}$ spermatogonií (A_{al} spermatogonie) dalším mitotickým dělením (Clermont a Leblond 2010; De Rooij a Griswold 2012). A_{al} spermatogonie se stále mitoticky dělí a vytvářejí řetězce 8, 16, někdy i 32 spermatogonií (Fayomi a Orwig 2018; Clermont a Leblond 2010). Dlouhé řetězce A_{al} spermatogonií dávají vznik diferenciovaným spermatogoniím A1, které se dělí v další typy spermatogonií – A1, A2, A3 a A4. Z těch se dalším dělením stávají intermediální spermatogonie, posléze spermatogonie B. Dalším mitotickým dělením se posléze ze spermatogonií B stávají primární spermatocyty, které se dělí již meioticky (Fayomi a Orwig 2018).

U člověka a vyšších primátů je proces diferenciacie spermatogonií mírně odlišný. Varlata těchto druhů obsahují dva morfologicky odlišné typy nediferenciovaných spermatogonií, spermatogonie A_{dark} a A_{pale} . Tyto dva typy se liší morfologií jádra a tím pádem i v intenzitě barvitelnosti hematoxylinem (Clermont 1966; Clermont a Antar 1973; Clermont a Leblond 1959). V roce 1959 bylo popsáno, že A_{dark} spermatogonie jsou populace buněk zodpovědná za sebeobnovu a udržování stabilního počtu zárodečných buněk a zároveň dávají vznik A_{pale} spermatogoniím, ze kterých se sérií mitóz vznikají diferenciované spermatogonie B (Clermont a Leblond 1959). O deset let později Clermont své tvrzení vyvrátil studií na kočkodanech obecných, a vznikla teorie, že A_{pale} spermatogonie jsou aktivní kmenové buňky zodpovědné za obnovu zásoby kmenových buněk, zatímco A_{dark} spermatogonie jsou rezervními zásobami kmenových buněk ve varleti pro případ nutné regenerace spermatogeneze (Clermont, 1969). Toto zjištění bylo potvrzeno dalšími výzkumy, při kterých byla zničena celá populace A_{pale} spermatogonií, která se následně obnovila z A_{dark} spermatogonií (Clifton a Bremner 1983; Oakberg, 1968; Oakberg, 1975; Van Alphen et al. 1988). Další studie poukazuje na fakt, že nízký mitotický index a regenerační kapacita A_{dark} spermatogonií je v souladu s teorií zásobních kmenových buněk a pravidelná proliferace A_{pale} spermatogonií je důkazem, že tyto buňky jsou zodpovědné za obnovu zásoby spermatogonií (Ehmcke a Schlatt 2006). Pozdější výzkum přináší další teorii, že A_{dark} a alespoň některé A_{pale} spermatogonie jsou stejnou populací buněk, které se ale nachází v jiném stádiu buněčného cyklu (tedy A_{dark} spermatogonie jsou ve stádiu G0, zatímco A_{pale} spermatogonie ve stádiích G1, S, G2 nebo M) (Hermann et al. 2010; Von Kopylow et al. 2012). Mitózou A_{pale} spermatogonií vznikají diferenciované spermatogonie B, které se opět mitoticky dělí v primární spermatocyty, které podstupují meiózu.

2.3.2 Fáze meiotického dělení

Meiotické dělení zahajují primární spermatocyty (spermatocyty 1. řádu), které vznikly mitózou ze spermatogonií typu B. Primární spermatocyty jsou diploidní a po prvním meiotickém dělení vznikají sekundární spermatocyty (spermatocyty 2. řádu), které jsou haploidní. Mají ovšem zdvojené chromatidy, prodělávají záhy druhé meiotické dělení za vzniku spermatid. Spermatidy jsou haploidní a dále se nedělí.

První meiotické dělení je zahájeno díky účinku gonadotropinů a testosteronu. V leptotenní fázi profáze prvního meiotického dělení dochází k vytvoření fyziologických dvouřetězcových zlomů DNA. V této době jsou chromozómy X a Y stále transkripčně aktivní a zůstanou i v průběhu zygotenní fáze (Turner et al. 2005). Nicméně krátce po přechodu do pachytene, jsou chromozómy inaktivovány (MSCI = meiotic sex chromosome inactivation), a vytváří se periferní nukleární struktura nazývaná XY body nebo také sex body (McKee a Handel 1993; Solari, 1974). MSCI je zahájeno fosforylací histonu H2 (H2AX) (Fernandez-Capetillo et al. 2003) a přetrvává po zbytek vývoje ve spermie (Turner 2007). Tato inaktivace je důležitá kvůli ochraně chromozómů proti jejich reciproké rekombinaci během crossing-over (de Vries et al. 2012; Kirkpatrick et al. 2012; Turner 2007). Spermatocyty pak dokončí obě meiotická dělení za vzniku spermatid, které se přeměňují na spermie spermiogenezí (Turner 2007).

2.3.3 Spermiogeneze

Spermiogeneze je fáze diferenciací spermatid do spermií. Vyznačuje se formováním bičíku, akrozómu a především kondenzací chromatinu (Holstein et al. 2003; Griswold 2016; Cheng, 2008). Přestože morfologicky spermie ve varleti připomíná zralou spermii, dokončení vývoje v plně zralé spermie následně probíhá až v nadvarleti (Sullivan a Mieusset 2016). Kompletní proměna ve spermii oplození schopnou však nastává až po ejakulaci v samičím reprodukčním traktu.

Pro správnou kondenzaci chromatinu je nezbytné, aby v průběhu spermatogeneze proběhly děje jako DNA imprinting a remodelace chromatinu (Ferguson-Smith a Surani 2001; Oliva 2006; Castillo et al. 2011; de Mateo et al. 2011; Doshi et al. 2013; Hiura et al.

2014). Tyto změny jsou definovány post-translačními modifikacemi (PTMs) histonů, jako je acetylace, metylace, fosforylace a ubiquitinace. Tyto modifikace vedou ve fázi spermiogeneze k postupné náhradě histonů za protaminy PRM1 a PRM2 (Baska et al. 2008; Hazzouri et al. 2000; Lambrot et al. 2019; Oliva 2006; Schon et al. 2019; Yuan et al. 2016; Brykczynska et al. 2010; Gannon et al. 2014). Tato protaminace má za následek další a komplexní kondenzaci chromatinu (Green et al. 1994; Vilfan et al. 2004; Balhorn 2007), inaktivaci genomu spermií za účelem ochrany paternální DNA a uchování nepoškozené genetické informace nutné ke správnému vývoji embrya (Carrell et al. 2007; Oliva a Luis Ballesc 2012).

Celý proces protaminace se odehrává souběžně s prolongací spermatidy, je zahájen procesem relaxace chromatinu způsobené hyperacetylací histonů a následným připojením testikulárních bromoproteinů (BRDT = bromodomain testis associated proteins). BRDT slouží jako markery pro začlenění přechodných proteinů 1 a 2 (TNP1, TNP2, transition protein), které jsou v procesu protaminace plně nahrazeny PRM1 a PRM2 (Green et al. 1994; Shang et al. 2009; Gaucher et al. 2012; Shirakata et al. 2014). Fyziologický poměr PRM1 a PRM2 je v savčích spermiích přibližně 1:1 a jakékoli změny v tomto poměru mohou vést k samčí neplodnosti (Wykes a Krawetz 2003; Govin et al. 2007). Při protaminaci však fyziologicky nejsou nahrazeny všechny histony ve spermiích, u myši zůstává 1% a u člověka až 15% tzv. reziduálních histonů (Pittoggi et al. 1999; Balhorn et al. 2018; Hamilton et al. 2019; Hammoud et al. 2009). Podobně jako v somatických buňkách, také ve spermiích podléhají tyto reziduální histony širokému spektru PTMs, definující epigenetický kód spermií (Gaucher et al. 2012; Green et al. 1994; Balhorn 2007).

Nejčastějšími PTMs reziduálních histonů jsou acetylace, metylace, fosforylace a ubiquitinace (Samanta et al. 2016). Hyperacetylace reziduálních histonů jsou zásadní pro regulaci genové exprese v časném embryonálním vývoji (Kutchy et al. 2018; Luense et al. 2016; Paradowska et al. 2012), avšak nadměrná hyperacetylace je známkou poruchy integrity chromatinu a zvýšených DNA zlomů ve spermiích, což má za následek jejich sníženou kvalitu (Kim et al. 2014). Acetylace jsou vyvažovány metylacemi, které mají opačný efekt na soudržnost chromatinu a genovou expresi. Methylace histonů jsou nezbytné pro ustanovení heterochromatinu (Sims et al. 2003), avšak H3K4me2 je známým markerem DNA zlomů indikujících nezralost chromatinu (Štiavnická et al. 2019). Oproti acetylacím a metylacím, fosforylace neovlivňují expresi genů (de Vries et al. 2012; Fernandez-Capetillo

et al. 2003; Vigodner 2009; Zhong et al. 2015), ale jsou klíčové pro remodelaci chromatinu a opravy poškození DNA, přičemž γ H2AX je intenzivně studovaným markerem fragmentace DNA (Casanovas et al. 2019; Siracusa et al. 2018; Siklenka et al. 2015; Dakkak W 2017; Derijck et al. 2008; Balhorn 2007). Ubiquitinace je další z PTMs a je spojována především s eliminací defektních spermií v procesu spermatogeneze a spermiogeneze (Baska et al. 2008). PTMs, jak fyziologické, tak patologické, jsou při oplození přenášeny do další generace (Shi et al. 2019b) a byla prokázána jejich modifikace endokrinními disruptory (Řimnáčová et al. 2020).

2.4 Endokrinní disruptory

Endokrinní disruptory (EDs) jsou definované jako exogenní látky, které zasahují do syntézy, sekrece, transportu, metabolismu, vazby nebo eliminace fyziologických hladin hormonů, které jsou zodpovědné za udržování homeostáze, bazálního metabolismu, chování a reprodukce organismu (Diamanti-Kandarakis et al. 2009). Vyznačují se hormonální aktivitou v závislosti na koncentraci EDs a koncentraci postižených hormonů v organismu, délce expozice disruptory a období expozice. Pro EDs je typické, že dosahují silnějších účinků při nízkých dávkách, které jsou označovány za subtoxické (Vom Saal a Welshons 2006). Tato vlastnost se nazývá efekt nízkých dávek (Grasselli et al. 2010; Vandenberg et al. 2012a) a tudíž nelze u EDs předpokládat úměrně (tj. lineárně) vzrůstající toxický efekt v závislosti na zvyšování dávky (Vandenberg et al. 2012a). Paradoxně mohou účinky EDs vymizet, když je jejich koncentrace v organismu vyšší než fyziologická koncentrace hormonu, jehož účinek imitují (Vom Saal a Welshons 2006).

Mimoto, důležité je též období, kdy je organismus vlivu EDs vystaven. Odlišným způsobem tak reagují dospělci a juvenilní jedinci, či dokonce plod a vyvíjející se embryo (Vandenberg et al. 2012a). Vystavení vlivu EDs během kritických období vývoje může též ovlivnit epigenom buněk prostřednictvím PTMs histonů (Rattan et al. 2019; Simeoni et al. 2018; Vandenberg et al. 2013). Tímto mechanismem EDs významně ovlivňují reprodukci samců i samic a pokud epigenetické změny indukované EDs postihnou gamety, tak i s přesahem do časného vývoje embrya (Li et al. 2011; Knez et al. 2014; Sharma et al. 2019; Mok-Lin et al. 2010; Xiao et al. 2011; Cabry et al. 2020). Byl prokázán též transgenerační efekt působení EDs (Rattan a Flaws 2019; Susiarjo et al. 2015; Ziv-Gal et al. 2015).

Zatímco existuje široká škála EDs přírodního i arteficiálního původu (fytoestrogeny, léčiva, pesticidy, zpomalovače hoření, komponenty plastů, atd.), za široce rozšířené považujeme bisfenoly, které vykazují široké spektrum účinku EDs s estrogením a/nebo anti-androgením účinkem, genotoxickým i epigenetickým mechanismem účinku (Eladak et al. 2015; Glausius 2014).

2.4.1 Bisfenoly

Difenylalkany, typické přítomností dvou fenolických kruhů spojených uhlíkovým atomem, jsou obecně nazývány bisfenoly. Existuje hned několik zástupců bisfenolů: bisfenol F (BPF) nemá na spojovacím uhlíku žádný substituent, bisfenol A (BPA) má na spojovacím uhlíku navázány dvě metylové skupiny, u bisfenolu AF (BPAF) jsou tyto metylové skupiny perfluorované, a bisfenol S (BPS) obsahuje navázanou sulfonovou kyselinu.

Bisfenoly jsou používány k výrobě plastických hmot, epoxidových pryskyřic, recyklovaného papíru, papíru pro termální tiskárny, plechovek, polykarbonátů a dalších produktů denní spotřeby (Rosenmai et al. 2014; Wang et al. 2015; Simoneau et al. 2011b; Wong a Durrani 2017b). Tato skutečnost z nich činí všudypřítomnou komponentu každodenní spotřeby, kterou je lidský organizmus exponován soustavně, byť velmi nízkými dávkami.

Produkce dříve nejpoužívanějšího BPA k roku 2022 byla odhadnuta až na 10,6 milionů tun (Abraham a Chakraborty, 2020). Bylo ale zjištěno, že časté používání, teplo, UV záření, alkalická úprava, intenzivní promývání, nebo kontakt s kyselými nebo bazickými sloučeninami urychlují hydrolyzu esterové vazby mezi molekulami BPA v polykarbonátech a pryskyřicích, což má za následek uvolnění monomerů BPA do životního prostředí, a tudíž i do potravního řetězce a lidského těla (Liao et al. 2012d). Hlavní cestou expozice je u člověka konzumace kontaminovaných potravin, pitné vody z plastových lahví nebo dermální kontakt s termálním papírem a kosmetikou, nebo též inhalace kontaminovaného prachu (Liao a Kannan 2014; Huang et al. 2012; Ribeiro et al. 2017; Ehrlich et al. 2014; Eladak et al. 2015; Wu et al. 2018; Viñas et al. 2010; Ike et al. 2006; Miyamoto a Kotake, 2005). V lidském organismu jsou tyto monomery přítomny ve většině tělních tekutin. BPA bylo odhaleno například v lidské moči, krevním séru, folikulární tekutině, plodové vodě, seminální plazmě i v mateřském mléce (Yamada et al. 2002; Ikezuki et al. 2002; Liao et al. 2012a; Mendonca et al. 2014; Vitku et al. 2015). Přítomnost bisfenolů v lidském těle vede k řadě zdravotních obtíží, například k obezitě, diabetu, a poškození reprodukčních funkcí (Mok-Lin et al. 2010; Rahman et al. 2015; Salian et al. 2011; Shi et al. 2019b; Siracusa et al. 2018; Vandenberg et al. 2007; Peknicová et al. 2002). Díky mnoha studiím prokazujícím negativní vliv na lidské zdraví je BPA je v dnešní době postupně nahrazován svými analogy (Eladak et al. 2015; Shi et al. 2019a), které jsou sice chemicky stabilnější, ale prokazují vyšší

biodegradabilitu a snazší dermální penetraci (Ike et al. 2006; Liao et al. 2012b; 2012c; Danzl et al. 2009). Jedním z nejčastěji využívaných analogů je právě BPS (Eladak et al. 2015), jehož negativní účinky na reprodukční systém nebyly dosud popsány a které odhaluje předkládaná práce.

2.4.2 Bisfenol S

4,4'-sulfonyldifenol neboli BPS, podléhá jen nízké legislativní regulaci, a tudíž je vhodným kandidátem pro nahrazování dříve hojně využívaného BPA (Liao et al. 2012a). Jeho používání je opravdu na vzestupu a jen v Evropské unii činila roční produkce BPS v roce 2016 až 10 000 tun a od té doby se každoročně zvyšuje (Del Moral et al. 2016). Následně byl tento endokrinní disruptor nalezen v životním prostředí, například v kalech v čistírnách odpadních vod (Lee et al. 2015; Yu et al. 2015), v povrchové vodě (Yamazaki et al. 2015; Jin a Zhu 2016), v bytovém prachu (Liu et al. 2021; Wang et al. 2015), ale také v potravinách (Liao a Kannan 2014), které jsou primárním zdrojem kontaminace pro lidstvo (Ehrlich et al. 2014; Eladak et al. 2015). Vskutku, BPS byl detekován v lidské moči v rozmezí 0,67 - 2,53 ng/ml (Chen et al. 2016; Ndaw et al. 2016; Philips et al. 2018), v krevní plazmě v koncentraci 0,073 – 4,844 ng/ml (Thayer et al. 2016; Maćczak et al. 2017), ve folikulární tekutině (až 2,11 ng/ml) (Dimitriadis et al. 2017), v seminální plazmě (0,12 – 0,17 ng/ml) (Smarr et al. 2018), v pupečnickové krvi (až 0,12 ng/ml) a v mateřském mléce (až 0,683 ng/ml) (Liu et al. 2017; Niu et al. 2017).

Bylo prokázáno, že BPS ovlivňuje buněčnou signalizaci v savčích buňkách (Viñas a Watson 2013b; 2013a) tak, že se váže na sérové albuminy (Mathew et al. 2014) a tím je usnadněna distribuce do celého těla. Napodobuje tak vlastnosti hormonů a interaguje s estrogenovými receptory (Rosenmai et al. 2014; Delfosse et al. 2012; Le Fol et al. 2015), čímž je schopen regulovat genovou expresi (Mesnage et al. 2017; Li et al. 2018). BPS opravdu vykazuje estrogení aktivitu, chová se především jako estradiol a je schopen stimulovat jeho signální dráhy (Eladak et al. 2015; Feng et al. 2016). Byla též prokázána androgení aktivita BPS (Molina-Molina et al. 2013; Rosenmai et al. 2014; Kitamura et al. 2005) potvrzená vazbou na thyroideální receptory u potkanů (Zhang et al. 2018). BPS také ovlivňuje signální dráhu cytochromové aromatázy, která má významnou úlohu při syntéze

estrogenů prostřednictvím předčasné hypotalamické neurogeneze (Kallivretaki et al. 2006; Kinch et al. 2015; Qiu et al. 2016). Da Silva et al. 2019 popsali působení BPS prostřednictvím hormonů štítné žlázy, thyroxinu a trijodthyroxinu, které hrají klíčovou roli v období březosti samic, kdy regulují genovou expresi a mají během časného embryonálního vývoje vliv na diferenciaci mozku plodu. Interakce drah aktivovaných estrogenovými, thyroïdními a aromatázovými receptory jsou klíčové pro správné fungování neuroendokrinního systému reprodukce a BPS modifikuje expresi genů v každé z nich.

V dnešní době nárůstu používání BPS se jím zabývá mnoho vědeckých prací, které potvrzují negativní vliv na reprodukci. Náš tým prokázal negativní vliv BPS na samčí (Řimnáčová et al. 2020) i samičí reprodukci (Prokešová et al. 2020) při přímé expozici, i při expozici nepřímé (Nevoral et al. 2021; Fenclová et al. 2022). Lze tedy tvrdit, že BPS rozhodně není vhodnou náhradou BPA. Současně je zapotřebí dalšího vědeckého zkoumání mechanismů účinku látek, které budou použity jako náhrada BPS, pro kvalifikovaný odhad jejich případného dopadu na lidské zdraví.

3 Hypotéza a cíle práce

3.1 Hypotéza

Přímá i nepřímá expozice bisfenoly S a F negativně ovlivňuje gametogenezi a tím i časný embryonální vývoj.

3.2 Cíle práce

1. Zhodnotit vliv přímé expozice nízkými dávkami BPS na kvalitu myších oocytů.
2. Zhodnotit vliv přímé expozice nízkými dávkami BPS na kvalitu myších spermií.
3. Zhodnotit vliv expozice BPS a BPF prostřednictvím mateřského mléka na kvalitu ovariální tkáně a oocytů u myší.
4. Zhodnotit vliv expozice BPS a BPF prostřednictvím mateřského mléka na kvalitu testikulární tkáně, spermií a časný embryonální vývoj u myší.
5. Zhodnotit vliv expozice BPS prostřednictvím mateřského mléka na vývoj testikulární tkáně a hemotestikulární bariéry u myší.

4 Materiál a metodika

4.1 Etické zásady

Všechny experimenty na zvířatech byly provedeny v souladu se zákonem o ochraně zvířat proti týrání (č. 246 / 1992 Sb.) pod dohledem Poradního výboru pro dobré životní podmínky na Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy České republiky, ID schválení MSMT-11925/2016-3.

4.2 Chemikálie

Použité chemikálie, včetně BPS (CAS: 80-09-1, katalogové číslo 103039) byly zakoupeny od společnosti Merck (St. Luis, MO, Spojené státy americké) a Abcam (Cambridge, UK), pokud není uvedeno jinak.

4.3 Experimentální zvířata a chovné podmínky

Myši byly chovány v intaktních polysulfonátových klecích s 12–ti hodinovým cyklem světlo/tma, při teplotě 21 ± 1 °C a relativní vlhkosti 60 %. Ultračistá voda ve skleněných lahvích byla měněna dvakrát týdně. Dieta bez fytoestrogenů (1814P, Altromin, Německo) byly poskytnuty *ad libitum*. Pokusná zvířata byla alespoň týden před zahájením experimentů aklimatizována.

4.4 Přímá expozice

4.4.1 Přímá expozice samců

Pro experiment byli použiti dospělí samci outbredního kmene laboratorní myši ICR ve věku 8–16 týdnů. Zvířata byla vystavena BPS prostřednictvím pitné vody po dobu 8 týdnů (8. – 16. týden věku). BPS bylo rozpuštěno v 100 % etanolu a tento zásobní roztok byl nadále 1000x ředěn do pitné vody. Finální koncentrace BPS tak dosahovala hodnot: 0,0038, 3,8 a 380 ng na ml. S ohledem na denní spotřebu pitné vody a evidovanou hmotnost experimentálních zvířat byly předpokládány následující dávky: 0,001, 1 a 100 ng na g tělesné hmotnosti a den (Bachmanov et al. 2002). Kontrolní skupina byla vystavena vehikulu (tj. 0,1% ethanol v pitné vodě). Samci byli po dokončení expozice zváženi a usmrceni cervikální dislokací za účelem sběru vzorků spermií a testikulární tkáně.

4.4.2 Přímá expozice samic

Dospělé outbrední ICR myši samice vystaveny BPS v dávkách 0.001, 0.1, 10, a 100 ng na g tělesné hmotnosti a den. Kontrolní skupina byla vystavena vehikulu (0,1% ethanol). BPS byl rozpuštěn v 50 µl 50 % glycerolu s obsahem 0,1 % dimethylsulfoxidu a podáván denně po dobu sedmi dnů orální sondou. Po období expozice byly myši usmrceny cervikální dislokací.

4.5 Expozice mateřským mlékem

Dospělé šest až sedm týdnů staré outbrední ICR myši byly spářeny v estrální fázi a po porodu exponovány BPS a BPF skrze pitnou vodu v koncentracích 0,375 ng na ml a 37,5 ng na ml od porodu (PND 0) do 15. dne života mláďat (PND 15). Kontrolní skupina byla vystavena vehikulu (0,1% ethanol), dávka 0,375 ng na ml diethylstilbestrolu (DES) byla požita jako pozitivní kontrola. Dávky byly zvoleny na základě známého biologického působení (Nevoral et al. 2018b; Prokešová et al. 2020) a odpovídající expozici lidí v reálném

životě (Rochester a Bolden 2015). Po zaznamenání množství zkonsumované pitné vody a tělesné hmotnosti kojících samic, byla určena skutečná BPS a BPF expozice těchto samic, 0,216 ng na g tělesné hmotnosti a den a 21,6 ng na g tělesné hmotnosti a den. Potomci byli odstaveni 21. den po narození (PND 21) a následně chováni individuálně ve standardních podmínkách až do dosažení reprodukční zralosti. Samčí mláďata byla usmrcena cervikální dislokací ve věku 15 dní (PND 15), 21 dní (PND 21) nebo 90 dní (PND 90). Samičí mláďata byla usmrcena cervikální dislokací ve věku 15 dní (PND 15) nebo 60 dní (PND 60)

4.6 Izolace oocytů a jejich *in vitro* maturace

Samice ve věku 8. - 12. týdnů byly po přímé expozici BPS usmrceny cervikální dislokací nebo hormonálně stimulovány PMSG. Po 48 hod. byly stimulované samice usmrceny cervikální dislokací za účelem izolace ovárií. Plně dorostlé nezralé oocyty ve stádiu zárodečného váčku byly z folikulů izolovány destrukcí ovariální tkáně pomocí jehly 27G. v médiu M2 (Merck, St. Luis, MO, Spojené státy americké, katalogové číslo MR-015-D) doplněném o 100 μ M isobutyl-methylxanthin (IBMX) (Merck, St. Luis, MO, Spojené státy americké, katalogové číslo 28822-58-4), inhibitor meiotického zrání oocytů (Grøndahl et al. 1998). Oocyty byly umístěny do kultivačního média M16 (Merck, St. Luis, MO, Spojené státy americké, katalogové číslo MR-016-D) s IBMX a ponechány po dobu alespoň 1 hodiny při 37 °C a 5 % CO₂. Poté byly oocyty fixovány v 4 % paraformaldehydu, doplněném 0,1% polyvinylalkoholem, po dobu 30 minut při laboratorní teplotě a skladovány při 4 °C do dalšího použití. Alternativně byly získané oocyty použity pro *in vitro* zrání v kultivačním médiu M16 po dobu 16 hodin při 37 °C a 5 % CO₂. Oocyty s vyděleným pólovým tělískem byly shledány jako dozralé. Tyto oocyty byly fixovány a skladovány, jak je popsáno výše.

4.6.1. Izolace zralých oocytů

Samice myší kmene ICR byly ve věku 8. – 12. týdnů hormonálně stimulovány PMSG a o 48 hod. později hCG. Po dalších 16. hod. byly samice usmrceny cervikální dislokací a následovala izolace *in vivo* dozralých oocytů. Ovulované komplexy kumulus-oocyt byly

vypláchnuty z izolovaných vejcovodů a ošetřeny 0,1 % hyaluronidázou po dobu 5 min. za účelem odstranění kumulárních buněk. Pouze vitální oocyty s vyděleným pólovým tělískem byly nadále fixovány v 4 % paraformaldehydu a skladovány při 4 °C do dalšího použití.

4.7 Partenogenetická aktivace oocytů

In vivo dozrálé oocyty izolované z vejcovodů samic ICR byly aktivovány 10 mM SrCl₂ v modifikovaném kultivačním médiu KSOM (Merck Millipore, Burlington, MA, Spojené státy americké, katalogové číslo MR-121-D,) doplněném 0,1 % hovězím sérovým albuminem (BSA), 2 mM EGTA, a 5 µg na ml cytochalasinu B, v podmínkách 37 °C a 5 % CO₂. Embrya byla následně kultivována v KSOM s BSA po dobu dalších 24 a 96 hod. do stádia 2buněčného embrya, resp. blastocysty.

4.8 Výplach embryí a jejich *in vitro* kultivace

Myší samice ICR ve věku 8. – 12. týdnů byly použity jako dárkyně embryí. Samice byly stimulovány pomocí PMSG a hCG, jak je popsáno výše. Po následném zapuštění prověřeným samcem byly samice usmrceny cervikální dislokací a jednobuněčné zygoty byly izolovány z vejcovodu do 0,1 % hyaluronidázy. Po odstranění kumulárních buněk byly zygoty fixovány v 4 % formaldehydu po dobu 30 min. a následně uskladněny ve 4 °C k dalšímu použití. Alternativně byly zygoty kultivovány *in vitro* dalších 96 hod. v modifikovaném KSOM médiu, v podmínkách 37 °C a 5 % CO₂. Na konci kultivace embryí byl zaznamenán počet blastocyst a blastocysty byly fixovány v 4 % paraformaldehydu a skladovány při 4 °C k dalšímu použití.

4.9 Analýza spermií

Pokusným samcům byly odebrány ocasy nadvarlat, které byly disektovány v 0,5 ml Whittenova média a spermii byl ponechán čas k vyplavání 30 minut. Koncentrace a

motilita spermií byla poté hodnocena za pomoci přehřáté Maklerovy komůrky a světelného mikroskopu (Olympus CKX 41; Německo) vybaveného deseti objektivovými čočkami (CAchN NA 0,25). Do Maklerovy komůrky bylo napipetováno 10 μ l suspenze spermií. Průměrná koncentrace spermií (milióny na mililitr) byla počítána ve třech liniích, každá o deseti čtvercích, a vydělena třemi. Současně byla každá spermie v počítané oblasti identifikována jako pohyblivá nebo nepohyblivá. Motilita spermií byla vyjádřena jako procento pohyblivých spermií z celkového počtu. Analýza byla prováděna jednou osobou, aby se předešlo zkreslení výsledků.

4.10 Test struktury chromatinu spermií (SCSA)

SCSA byl proveden podle již dříve popsaného protokolu (Evenson a Jost 2000). Tato technika je založena na zranitelnosti spermatozoální DNA vůči denaturaci vyvolané kyselinou *in situ* a následném metachromatickém barvení akridinovou oranží. Hodnotil se index fragmentace DNA (DFI) lrb% a vysoká barvitelnost DNA (HDS) lrb%, indikátory nezralosti chromatinu (tj. úplnosti protaminace). Vzorke byly hodnoceny pomocí FACSVerse Flow Cytometer (BD Biosciences) kontrolovaného pomocí BD FACSuite. U každého vzorku bylo zaznamenáno 5 000 událostí. Excitace akridinové oranže byla provedena modrým laserem (488 nm); červená fluorescence byla detekována pomocí filtru 700/54 BP a zelená fluorescence byla detekována pomocí filtru 537/32 BP. Data byla analyzována pomocí WEASEL Ver. 3 (WEHI).

4.11 Elektroforéza (ELFO) a Western Blot (WB)

ELFO a WB byly provedeny na lyzátu testikulární tkáně a spermií experimentálních samců. Testikulární tkáň byla lyžována v radioimunoprecipitačním pufru obohaceném o kompletní koktejl proteázových inhibitorů (Roche, Švýcarsko). Vzorke hlaviček spermií byly připraveny sonikací a lyžou v radioimunoprecipitačním pufru doplněném 100mM DTT. Následně byla změřena koncentrace proteinů pomocí bicinchoniové kyseliny (Olson 2016; Lovrien a Matulis 2005). Poté byly vzorke smíchány s Laemliho nanášecím pufr

doplněným β -merkaptoethanolem. Pro elektroforézu na dodecylsulfátovém polyakrylamidovém gelu byly použity 4–15% separační Mini-PROTEAN[®] TGX Stain-Free[™] Precast Gely (Bio-Rad, Francie); kdy do každé gelové komůrky bylo loadováno 30 μ g testikulárních proteinů nebo 60 μ g proteinů spermií. Pro Western blotting byl použit Trans-Blot[®] Turbo[™] Transfer System (Bio-Rad, Francie). Polyvinylidendifluoridové membrány (Bio-Rad, Francie) byly blokovány v 5 % hovězím sérovém albuminu v TBS s 0,5% Tween-20 po dobu 60 minut při 21 \pm 1 °C a inkubovány přes noc při 4 °C s primárními protilátkami zředěnými v 1 % hovězím sérovém albuminu v TBS s 0,5 % Tween-20. Králičí polyklonální anti- α -tubulinová protilátka (1:1 000; Cell Signaling, Spojené státy americké, katalogové číslo 2144;) byla použita jako srovnávací protilátka. Sekundární protilátky konjugované s křenovou peroxidázou (kozí anti-myší nebo anti-králičí IgG; 1:15 000; Invitrogen, Spojené státy americké) byly aplikovány po dobu 1 hodiny při 21 \pm 1°C. Cílené proteiny byly vizualizovány pomocí ECL Select Western blotting Detection Reagent (GE Healthcare Life Sciences, Spojené království) a membrány byly skenovány na systému ChemiDoc[™] MP (Bio-Rad, Francie). Snímky membrán byly zpracovány pomocí softwaru ImageLab 4.1 (Bio-Rad, Francie).

4.12 Histologie

Tkáň k histologické analýze byla fixována v Bouinově fixačním médiu, následně dehydratována a zalita do parafínu. Tkáň v parafinových bločcích byla nařezána na 10 μ m tlusté řezy, které byly po odstranění vosku a rehydrataci barveny hematoxylinem a eosinem. Následně byly histologické řezy hodnoceny pod světelným mikroskopem.

4.13 Imunofluorescence

K imunobarvení byly 10 μ m silné histologické řezy zbaveny vosku a rehydratovány. Nespecifická vazebná místa byla blokována roztokem 5 % normálního kozího séra (NGS) a 0,1% TritonX-100 a 0,5% Tween 20 ve fosfátem pufovaném fyziologickém roztoku (PBS-TT) po dobu 60 min. při 21 \pm 1°C. Následně byly řezy inkubovány s primární protilátkou

(1:200) přes noc při 4°C. Nespecifická vazba sekundární protilátky byla testována vynecháním specifických primárních protilátek a tato sklíčka byla zpracována stejným postupem. Po promytí v roztoku PBS-TT obsahujícím 1 % NGS byla sklíčka inkubována po dobu 40 minut s PNA lektinem (1:400; Alexa Fluor 488, Abcam, Spojené království) a odpovídající sekundární protilátkou (anti-myší nebo anti-králičí Alexa Fluor 647, Abcam, Spojené království) ředěnou 1:500 v PBS-TT obsahující 1 % NGS. Sklíčka byla zamontována pomocí Vectashield média s 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI; Vector Laboratories Inc., Spojené státy americké) k barvení jader. Snímky byly získány pomocí konfokálního mikroskopu s rotujícím diskem Olympus IX83 (Olympus, Německo) a softwaru VisiView (Visitron Systems GmbH, Německo). Vzniklé snímky byly analyzovány pomocí ImageJ software (NIH, Spojené státy americké).

4.14 Imunocytochemie

Fixované oocyty nebo zygoty byly permeabilizovány v PBS obsahujícím 0,04 % TritonX-100 a 0,3 % Tween-20 po dobu 15 minut při 37 °C. Vzorky byly poté blokovány v 1 % hovězím sérovém albuminu v PBS s Tween-20 po dobu 15 minut a inkubovány s koktejlem protilátek (1:200) po dobu 1 hodiny při 21±1 °C. Nespecifická vazba sekundárních protilátek byla testována vynecháním specifických primárních protilátek a tato sklíčka byla zpracována stejným postupem. Po promytí byly vzorky inkubovány s koktejlem sekundárních protilátek Alexa Fluor 488 a 647 (1:200). Do promývacího roztoku byl přidán faloidin (1:200; kat. č. #13054; Thermo Fisher Scientific, Spojené státy americké) kvůli vizualizaci β-aktinu. Obarvené vzorky byly upevněny na sklíčka pomocí média Vectashield s DAPI (Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, Spojené státy americké). Snímky byly získány pomocí konfokálního mikroskopu s rotujícím diskem Olympus IX83 (Olympus, Německo) a softwaru VisiView (Visitron Systems GmbH, Německo). Snímky byly hodnoceny pomocí softwaru ImageJ (NIH, Spojené státy americké).

4.15 Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick End Labeling (TUNEL)

Analýza TUNEL byla provedena za účelem analýzy dvouřetězcových zlomů DNA. Fixované vzorky byly permeabilizovány v 0,1 % Tritonu X-100 v PBS obsahujícím 0,05 % NaN₃ po dobu 40 minut. Poté byly ošetřeny fluoresceinem konjugovaným dUTP a enzymem terminální deoxyribonukleotidyltransferázou (In situ Cell Death Detection Kit, kat. č. 11684795910, Roche, Německo) po dobu 1 hodiny ve tmě při 37 °C. Pozitivní kontrola byla připravena pomocí soupravy DNase I (AMP-D1, Sigma-Aldrich, Spojené státy americké). Nakonec byly vzorky upevněny na sklíčka Vectashield médiem s DAPI (Vector Laboratories Inc., Spojené státy americké). Intenzita signálu byla měřena pomocí softwaru ImageJ (National Institutes of Health, Spojené státy americké).

4.16 Statistické vyhodnocení

Data byla analyzována pomocí GraphPad Prism 8.1.1 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, Spojené státy americké). Na základě Shapiro-Wilkových testů distribuce normality byly rozdíly testovány pomocí běžné jednosměrné analýzy rozptylu, po které následoval Tukeyho vícenásobný test. Alternativně byly pro nenormálně distribuovaná data použity Kruskal-Wallisovy a Dunnovy *post hoc* testy. P-hodnoty <0,05, 0,01, 0,001 a 0,0001 byly považovány za statisticky významné a označeny hvězdičkami (*), (**), (***) a (****). Alternativně, křížky indikovaly rozdíly od pozitivní kontroly (low DES) (#, ##, ###, respektive #####). Normálně a nenormálně distribuovaná data jsou vyjádřena jako průměr a medián.

5 Výsledky

5.1 Přímá expozice nízkými dávkami BPS ovlivňuje kvalitu myších oocytů

V této studii jsme předpokládali negativní vliv endokrinního disruptoru bisfenolu S (BPS) na kvalitu myších oocytů po přímé *in vivo* expozici samic. Cílem této studie bylo posoudit změny cytoskeletární, kvality chromatinu a změny transkriptomu v oocytech po přímé *in vivo* expozici širokým rozsahem subtoxických dávek BPS. Jako donorky oocytů byly použity dospělé samice laboratorní myši kmene ICR. Oocyty byly analyzovány prostřednictvím metody TUNEL, imunocytochemie a qRT-PCR.

Přímá expozice nízkými dávkami BPS neovlivnila počet izolovaných oocytů ve stádiu zárodečného váčku (GV – germinal vesicle), kvalitu chromatinové konfigurace, ani počet dozrálých oocytů a meiotické kompetence, nicméně u zralých oocytů ošetřených BPS byly sledovány morfologické abnormality na dělicím vřeténku včetně nekonjugovaných tubulů. Vyskytla se též dvojitá metafázní vřeténka a poruchy v zarovnání chromozómů v metafázní destičce. V GV oocytech byl pozorován nárůst metylace DNA (5meC), markeru heterochromatinu, a dimethylace histonu H3 (H3K27me2), markeru stability genomu. Rovněž u zralých oocytů byl pozorován nárůst 5meC po expozici BPS, zatímco H3K27me2 nevykazoval statisticky významný rozdíl. Vzhledem ke změnám chromatinových markerů nezralých GV a zralých oocytů byl hodnocen účinek účinné dávky BPS na genovou expresi v GV oocytech. Byla zjištěna zvýšená exprese genů spojených s buněčným stresem (zejména *Cldn34b2*, *Gsdmc2* a *Batf3*) po expozici BPS. Pozorovali jsme rovněž změny ve faktorech souvisejících s embryonálním vývojem, zejména exprese markerů preimplantačního embryonálního vývoje *Ceacam10*, *Hist1h2af*, *Tma16* a *Raptor*, byla zvýšená.

Závěrem lze tvrdit, že expozice BPS významně ovlivňuje kvalitu oocytů prostřednictvím tvorby vřeténka, stability genomu a epigenetických modifikací během meiotického zrání. Mimoto, expozice BPS ovlivňuje transkripční profil v nezralých GV oocytech, kdy zejména transkripty buněčného stresu a následného embryonálního vývoje podléhají signifikantním změnám.

Na této práci jsem se podílela provedením obrazové analýzy oocytů po imunocytochemické analýze.

5.2 Nízké dávky BPS ovlivňují kvalitu myších spermií prostřednictvím post-translačních modifikací proteinů

V další práci jsme předpokládali negativní vliv přímé expozice endokrinního disruptoru BPS na jedince experimentálních myších samců. Cílem bylo analyzovat kvalitu spermií a testikulární tkáň u myších samců po přímé expozici nízkými dávkami BPS. Vedle dosud známých mechanismů účinku endokrinních disruptorů (tj. hormonální disbalance, případně toxický efekt) jsme testovali dopad BPS na post-translační modifikace proteinů testis a spermií.

Po 8 týdnech přímé expozice nízkými dávkami BPS byli myší samci usmrceni, zváženi a byla jim odebrána varlata pro další proteomické analýzy. Spermie byly získány z nadvarlat odebraných ve stejnou dobu. Tkáň varlat byla hodnocena stereologicky, epigenetické změny testikulární tkáň a spermií byly sledovány pomocí metody western blot. Pro identifikaci a kvantifikaci proteinů testikulární tkáň a spermií byly použity metody hmotnostní spektrometrie nano-liquid chromatografie-MS (nano-LC-MS), resp. matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight (MALDI-TOF).

Nebyl zaznamenán statistický rozdíl mezi tělesnou hmotností ani relativní hmotností varlat, hladinami hormonů a koncentrací spermií mezi jednotlivými skupinami. Pozorovali jsme ovšem snížení počtu motilních spermií u vybrané skupiny BPS. Pro zjištění dopadu přímě expozice BPS na testikulární tkáň byla provedena stereologická analýza, která neprokázala vliv expozice BPS. Pro zjištění efektu BPS na spermatogenezi, byla identifikována jednotlivá stádia spermatogeneze semenotvorného epitelu a nebyl prokázán žádný statisticky významný rozdíl mezi skupinami. Histopatologická analýza ale odhalila nárůst abnormalit, jako zvětšení multijaderných zárodečných buněk v testikulární tkáni u myší exponovaných nejvyšší dávkou BPS. Rovněž došlo ke snížení počtu zralých spermií v zárodečné vrstvě. Proteomickou analýzou testikulární tkáň nebyly prokázány rozdíly v acetylování a fosforylování testikulárních proteinů, nicméně byl zjištěn nárůst dvouřetězcových zlomů DNA, testovaných pomocí protilátky proti fosforylovanému histonu H2 (γ H2AX). Rovněž byla provedena analýza acetylování a fosforylování ve spermiích, kdy byl zjištěn nárůst acetylování u proteinů s molekulární vahou 37, 40 a 50 kDa a fosforylování u proteinů s molekulární vahou 37, 40, 85 a 100 kDa u samců exponovaných BPS. V souladu s předchozími zjištěními, která prokazují pokles motility spermií u exponované skupiny

samců, můžeme předpokládat, že byly acetylovány cytoskeletální faktory, jako je tubulin. Pomocí specifické protilátky proti acetylovanému α -tubulinu však nebyl tento efekt prokázán.

Tato studie je mezi prvními, které prokazují škodlivost reálných nízkých dávek BPS na kvalitu savčích spermií. Protože je reálná expozice BPS u člověka mnohem nižší (0,004 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tělesné hmotnosti/den), než se běžně testuje (Liao et al. 2012b), naše výsledky přináší cenné poznatky o dalším možném způsobu účinku endokrinních disruptorů: modulace post-translačních modifikací proteinů. Lze se tak domnívat, že tyto změny mohou být příčinu idiopatické neplodnosti u mužů.

Na předložené publikaci jsem se podílela zejména na proteomických analýzách spermií a testikulární tkáň pomocí metody western blot.

5.3 Expozice bisfenoly prostřednictvím mateřského mléka jako možná příčina idiopatické neplodnosti samic

Po prozkoumání účinku BPS na kvalitu oocytů, testikulární tkáně a spermií při přímé expozici, jsme se zaměřili na expozici nepřímou prostřednictvím mateřského mléka. Předpokládali jsme negativní efekt BPS na ovariální rezervu a kvalitu oocytů především na intracelulární úrovni, tj. na úrovni epigenetických markerů heterochromatinu a malformace dělicího vřeténka. Dalším předpokladem byla snížená schopnost vývoje oocytů do stádia blastocyst. Cílem práce bylo zhodnotit vliv expozice BPS a BPF prostřednictvím mateřského mléka na kvalitu ovariální tkáně, ovariální zásobu, kvalitu oocytů a jejich vývojové kompetence do stádia blastocyst.

Pokusné kojící samice myšího kmene ICR byly exponovány BPS nebo BPF prostřednictvím pitné vody. Tímto jsme simulovali expozici potomků mateřským mlékem, v našem modelu do 15. postnatálního dne (PND15), kdy dochází výhradně k příjmu mateřského mléka. Kontrolní skupina kojících samic byla napájena vehikulem, tj. 0,1 % etanolem. Po ukončení expozice byly samice potomků usmrceny cervikální dislokací v 15. den věku (PND15), samice jiných vrhů byly dále chovány a usmrceny cervikální dislokací v den dosažení reprodukčního vrcholu ve věku 60 dní (PND60). Jejich ovaria byla použita pro histologickou a stereologickou analýzu. Alternativně jsme izolovali nezralé oocyty (GV) a ty následně kultivovali *in vitro*. Zralé oocyty byly použity pro imunocytochemickou analýzu. Stejně tak oocyty dozrálé *in vivo* byly analyzovány pomocí imunocytochemie nebo použity pro partenogenetickou aktivaci a kultivovány do stádia blastocyst.

Nebyl prokázán rozdíl mezi kontrolními a exponovanými samicemi v četnosti primordiálních folikulů v juvenilním stádiu ani v počtech primárních, preantrálních, antrálních či atretických folikulů v dospělosti. Mimoto, jiné samice v proestu/estru byly použity jako dárkyně nezralých oocytů ve stádiu zárodečného váčku (GV – germinal vesicle), které byly kultivovány *in vitro* do stádia zralých oocytů. Alternativně, hormonálně stimulované samice ovulovaly *in vivo* dozrálé oocyty. Expozice bisfenoly neovlivnila počet GV oocytů získaných z ovaria ani schopnost znovu zahájit meiotické zrání (tj. GVBD, rozpad zárodečného váčku). Podobně u oocytů dozrálých *in vivo* nebyl statisticky významný rozdíl v celkovém počtu oocytů, ani počtu atretických nebo fragmentovaných oocytů. Následně byl hodnocen mechanismus účinku bisfenolů na intracelulární úrovni. Pomocí

imunobarvení α -tubulinu a dimetylace histonu H3 na lysinu K27 (H3K27me2) byl hodnocen cytoskelet a heterochromatin oocytů ovulovaných po hormonální stimulaci. Jako dárkyně vajíček byly použity samice v nativním cyklu říje ve fázi pro-/estru. Oocyty samic vystavených nízkým dávkám BPS a BPF vykazovaly zvýšený výskyt malformací dělicího vřeténka doprovázené poruchami v zarovnání chromozómů v metafázní destičce. Byla pozorována aberantní dělicí vřeténka, poruchy zarovnání chromozómů i epigenetické změny heterochromatinu u oocytů dozrálých *in vitro* i ovulovaných *in vivo*. *In vivo* dozrálé oocyty byly dále použity pro posouzení vývojové kompetence do stádia blastocyst pomocí partenogenetické aktivace. Partenogenetická aktivace odhalila pokles ve vývojové kompetenci ovulovaných oocytů a to tak, že u skupin vystavených nízkým dávkám BPS jsme pozorovali selhání v dělení blastomer stejně jako snížený počet blastocyst.

Tato studie prokazuje, že expozice alternativními bisfenoly prostřednictvím mateřského mléka je možnou příčinou idiopatické infertility u žen v dospělosti. BPS i BPF mají škodlivé účinky na oocyty během perinatálního expozičního okna, kdy se významným způsobem rozhoduje o kvalitě oocytu uplatněné v dospělosti.

Na této práci jsem se podílela provedením analýzy obrazu oocytů po imunocytochemické analýze.

5.4 Idiopatická infertilita samců způsobená expozicí bisfenolů prostřednictvím mateřského mléka

Stejně jako u samic, idiopatická infertilita dospělých samců může být způsobena vystavením škodlivému vlivu bisfenolů v období perinatálního vývoje mléčné výživy. Předpokládali jsme změny v testikulární tkáni, sníženou kvalitu spermií, hlavně vyšší výskyt dvouřetězcových zlomů DNA, které po oplození ovlivní i kvalitu časného embryonálního vývoje. Cílem této studie bylo posoudit vliv laktační expozice BPS a BPF na samčí reprodukční schopnosti, tedy na kvalitu testikulární tkáně, spermií, ale také na časný embryonální vývoj embryí po oplození oocytů spermii exponovaných samců.

Pokusné kojící samice myšího kmene ICR byly exponovány BPS nebo BPF prostřednictvím pitné vody. Tímto jsme simulovali expozici potomků mateřským mlékem, v našem modelu do 15. postnatálního dne (PND15), kdy dochází výhradně k příjmu mateřského mléka. Kontrolní skupina kojících samic byla napájena vehikulem, tj. 0,1 % etanolem. Jako pozitivní kontrola byla použita nízká dávka diethylstilbestrolu (DES). Po odstavu byly myší samci chováni do dosažení dospělosti, kdy byli použity k přirozenému připouštění samic; tyto samice se staly donorkami zygot, které byly vypláchnuty z vejcovodů *post mortem* a kultivovány do stádia blastocyst *in vitro*. Nakonec byli pokusní samci usmrceni cervikální dislokací a byly izolovány jejich spermie a testikulární tkáň. Tento materiál byl dále hodnocen pomocí imunofluorescence a western blotu.

Expozice bisfenoly neměla efekt na hmotnost samců po odstavu ani u dospělců, avšak estrogenní účinek bisfenolů, vyjádřený pomocí změn anogenitální vzdálenosti, byl pozorován u samců vystaveným nízkým dávkám BPS. Nebyly zjištěny žádné rozdíly v motilitě a koncentraci spermií mezi skupinami, stejně jako v indexu fragmentace DNA a míry dekondezace chromatinu spermií. Dále byl hodnocen vliv bisfenolů na histonový kód u dospělých samců, který mohl být poškozen v citlivém expozičním oknu vývoje zárodečných spermatogonií. Byly zkoumány dva epigenetické markery stability chromatinu a DNA poškození – dimetylace lysinu K4 na histonu H3 (H3K4me2), resp. fosforylace histonu H2 (γ H2AX) u samců exponovaných BPS. Byl pozorován nárůst H3K4me2 v testikulární tkáni u skupiny exponované střední dávkou BPS, avšak γ H2AX nevykazoval žádné rozdíly. Stejně markery byly posouzeny i u spermií, kde nebyly zjištěny žádné rozdíly. Nicméně byl pozorován nárůst γ H2AX loci v samčích projádrech zygot po oplození oocytů

spermiemi samců exponovaných bisfenoly. Podobně schopnost vývoje do blastocyst výrazně poklesla u skupiny samců exponované středními dávkami BPS. Přestože nebyly prokázány žádné rozdíly v počtu blastomer těchto blastocyst, byl zaznamenán nárůst DNA zlomů v blastomerách. Data získaná v jednotlivých experimentech byla použita pro stanovení korelací mezi jednotlivými parametry. Zajímavé negativní korelace byly zjištěny mezi H3K4me2 v testikulárních zárodečných buňkách a dělením časných embryí, a také dvouřetězcovými zlomy DNA v blastocystách. Významná pozitivní korelace byla zjištěna mezi γ H2AX ve spermiích a γ H2AX loci v paternálních prvojádrech. Je zřejmé, že kvalita testikulární tkáně a spermií je úzce spjata s kvalitou časného embryonálního vývoje a blastocyst.

Tato studie potvrzuje, že expozice bisfenoly prostřednictvím mateřského mléka v citlivém perinatálním období ovlivňuje kvalitu testikulární tkáně samců a tím i jejich spermie v dospělosti, kdy spermie své poškození přenášejí do zygoty a časného embrya. Tato zjištění mohou být odpovědí na příčinu idiopatické neplodnosti u mužů, která může mít svůj původ již v období mléčné výživy.

Na předložené publikaci jsem se podílela experimentálním designem, hodnocením kvality testikulární tkáně a spermií pomocí metody western blot, analýzou dosažených výstupů pomocí densitometrie. Můj podíl byl rovněž v podobě vyhodnocení výsledků, příprava výstupů, interpretace nálezů a psaní rukopisu. V autorském kolektivu jsem zastala úlohu korespondujícího autora.

5.5 Idiopatická infertilita je způsobená vlivem BPS na testikulární tkáň

Tato studie navazuje na předchozí a je zaměřená na hodnocení testikulární tkáně u samců vystavených účinkům BPS prostřednictvím mateřského mléka. Protože testikulární tkáň hraje klíčovou roli ve správném vývoji spermií, předpokládali jsme po expozici bisfenoly negativní změny právě v testikulární tkáni. Očekávali jsme především poškození hemotestikulární bariéry, komponenty nezbytné pro zajištění optimálního prostředí pro spermatogenezi, která je utvářena v kritickém období perinatálního vývoje, kdy bisfenoly mohou ovlivnit její formování a funkci v dospělosti. Cílem práce bylo zhodnotit kvalitu testikulární tkáně, složení hemotestikulární bariéry a posouzení míry oxidativního stresu v testikulární tkáni u myších samců exponovaných mateřským mlékem.

Pokusné kojící samice myšího kmene ICR byly exponovány BPS nebo BPF prostřednictvím pitné vody. Tímto jsme simulovali expozici potomků mateřským mlékem, v našem modelu do 15. postnatálního dne (PND15), kdy dochází výhradně k příjmu mateřského mléka. Kontrolní skupina kojících samic byla napájena vehikulem, tj. 0,1% etanolem. Jako pozitivní kontrola byla použita nízká dávka diethylstilbestrolu (DES). Samci byli usmrceni cervikální dislokací v 15. dni života (PND15) nebo v 90. dni života (PND90) a jejich varlata byla použita pro histopatologické a imunohistochemické analýzy, imunofluorescenční analýzy, TUNEL a western blot.

Pomocí histopatologické analýzy byla porovnáována kvalita testikulární tkáně u mladých (PND15) a dospělých (PND90) samců. U mladých ani dospělých samců nebyl prokázán žádný statistický rozdíl v počtu poškozených semenotvorných kanálků. Dále byly zkoumány kvantitativní znaky testikulární tkáně dospělých samců. Průměr semenotvorných kanálků nevykazoval žádné rozdíly, avšak došlo k výraznému snížení zárodečného epitelu testikulární tkáně u samců vystavených středním dávkám BPS. Podobně nebyl prokázán rozdíl v poměru semenotvorných kanálků v různých stádiích spermatogeneze (I – IV, IV – VI, VII – XII). V semenotvorných kanálcích nebyly zaznamenány rozdíly v počtech pachytenních a leptotenních spermatocytů ani v počtu kulovitých spermatid. Pomocí analýzy TUNEL nebyl prokázán žádný rozdíl mezi jednotlivými skupinami, stejně tak γ H2AX, marker dvoušroubovicových zlomů DNA, nevykázal žádné rozdíly. Mimo markerů epigenetické kvality a integrity chromatinu jsme se zaměřili na hemotestikulární bariéru pomocí proteinového markeru connexin 43 (CX43). Zatímco u mladých samců nebyly

pozorovány žádné rozdíly mezi pokusnými skupinami a kontrolními, u dospělců byl prokázán nárůst oblasti výskytu CX43 u samců exponovaných střední dávkou BPS. Pro hodnocení těsných spojů imunofluorescencí byly použity protilátky proti occludinu 11 (OCL11) a proti *zonula occludens 1* proteinu (ZO1). Byl pozorován nárůst OCL u skupin vystavených nízké dávce BPS, a také podstatný nárůst ZO1 u obou pokusných skupin. Těsné spoje byly testovány jen u dospělých samců (PND90). Mimo markerů hemotestikulární bariéry byl prokázán nárůst oxidativního stresu, měřeného 8-hydroxy-2'-deoxygaunosinu (8OHdG) v mitochondriích, zatímco cytoplazmatické ukazatele heat shock protein 90 (HSP90) a peroxiredoxin 6 (PRDX6) zůstaly bez změny.

Stejně jako předchozí studie, i tato práce prokazuje negativní vliv expozice BPS prostřednictvím mateřského mléka na reprodukční schopnosti samců v dospělosti. Oproti předešlé práci, která popisuje důsledky selhávání, přináší tato studie poznatky o možném mechanismu, kterým bisfenoly v testikulární tkáni působí. Mimoto jsme touto studií přispěli pochopení kinetiky bisfenolů prostupujících mateřským mlékem matky do organismu sajících potomků.

Na předložené publikaci jsem se podílela na designování experimentů, hodnocením testikulární tkáně pomocí analýzy western blot, imunofluorescence, vyhodnocení výsledků těchto analýz densitometrií, resp. obrazovou analýzou. Též jsem se podílela na extrakci BPS ze vzorků mateřského mléka a žaludečních obsahů potomků. Výsledky jsem zpracovala a interpretovala pro účely rukopisu, kterým jsem sepsala a v současné době odeslala do redakce časopisu. Také v tomto případě plním úlohu korespondujícího autora.

6 Diskuse

Bisfenoly jsou rozšířené endokrinní disruptory běžně používané k výrobě mnoha produktů denní spotřeby, jako jsou plastické hmoty, epoxidové pryskyřice, recyklovaný papír, papír pro termální tiskárny, plechovky či polykarbonáty (Rosenmai et al. 2014; Wang et al. 2015; Simoneau et al. 2011b; Wong a Durrani 2017b). Použití BPA, u něž byly prokázány toxické účinky, je legislativně regulováno (EFSA 2015), a proto dochází k jeho nahrazování pomocí různých analogů, zejména BPS. Výrobky tak získají status „BPA free“, ačkoli obsahují jiný endokrinní disruptor, jehož použití není zatím právně ošetřeno. Výskyt BPS v prostředí a lidských tělních tekutinách je v dnešní době srovnatelný s výskytem BPA (Wu et al. 2018; Karrer et al. 2020), proto je nutné podrobit BPS přísnému vědeckému zkoumání a zjištění negativních účinků na lidské zdraví. Protože jsou lidé každodenně vystaveni nízkým dávkám BPS, který přestože je rychle metabolizován a vylučován močí (Skledar et al. 2016), jsou tak vystaveni chronickému působení vlivu BPS. Dopad BPS na zdraví člověka je zjevný, bisfenoly byly označeny za obesogeny, ve vyšších dávkách za látky toxické a v nízkých dávkách za hormonální disruptory. Pokud však dochází k poškození či ovlivnění reprodukčních schopností, může se řada změn v gametách odrazit ve snížené schopnosti reprodukce a/nebo nepřímo přenášet změny na své potomky (Shi et al. 2019b). Reprodukční schopnosti člověka jsou jednou z mnoha oblastí, které BPS negativně ovlivňuje jak při expozici přímé tak nepřímé.

Prokázali jsme negativní vliv akutní přímé expozice BPS na samičí reprodukci (Prokešová et al. 2020), kdy jsme pozorovali nepravidelné uspořádání mikrotubulů v dělicím vřeténku oocyty a chybné zarovnání chromozómů v metafázní destičce. Toto pozorování podporuje estrogení účinek BPS popsany dříve (Beker-Van Woudenberg et al. 2004). BPS se vyznačuje také epigenetickým účinkem, což bylo potvrzeno zvýšením metylace DNA (5meC) ve zralých MII oocytech a zvýšením dimetylace histonu H3 (H3K27me2) v nezralých GV oocytech. Tyto výsledky se shodují s dříve pozorovaným účinkem BPA na metylaci histonů v oocytech (Trapphoff et al. 2013; Wang et al. 2016), avšak epigenetický účinek BPS vykazuje rozdíly při akutní a chronické expozici (Nevoral et al. 2018a). Naše výsledky poukazují, že BPS moduluje epigenetický kód, čímž se může zapojit také do genové exprese gamet v dřívějších fázích oo-/spermatogeneze, obdobně jako BPA (Verbanck et al. 2017). Změny v epigenetickém kódu po expozici disruptory následně

mohou nejen přetrvat po celý život, ale také mohou být přeneseny na potomstvo tzv. inter- a transgenerační dědičnost (Walker 2016).

Přímá expozice BPS negativně ovlivnila také samčí reprodukci prostřednictvím posttranslačních modifikací (PTMs) (Řimnáčová et al. 2020). Protože dozrálé spermie jsou transkripčně neaktivní, jsou za regulaci proteinové aktivity zodpovědné PTMs, například acetylace a fosforylace lysinu jsou nezbytné pro správnou funkci spermií (Naz a Rajesh 2004; Ritagliati et al. 2018). Ve snaze popsat mechanismus negativního účinku bisfenolů, který byl popsán na samčí reprodukci již dříve (Naz a Rajesh 2004; Rahman et al. 2017; Ritagliati et al. 2018; Peknicová et al. 2002) jsme předpokládali, že právě PTMs jsou ovlivňovány a modifikovány těmito polutanty. Myši samci byli vystaveni účinkům BPS prostřednictvím pitné vody po dobu 8 týdnů, což pokrývá celý proces spermatogeneze včetně ustanovení kódu v podobě PTMs. Opravdu, v lyzátu spermií samců vystavených působení BPS byly detekovány změny proteinové acetylace a fosforylace, které jsou spojeny s úspěšnou kapacitací a fertilizační schopností spermie (O’Flaherty et al. 2004; Ritagliati et al. 2018). Tento nálezný je pravděpodobnou příčinou snížení motility spermií, neboť aberantní acetylace a/nebo fosforylace mohou být zodpovědné za poruchy pohyblivosti spermií (Nakamura et al. 2008; Mariappa et al. 2010). Snížení fosforylací tyrosinu naznačuje nedostatek aktivity proteinu hexokinázy-1, která je spojována s mužskou neplodností (Olds-Clarke et al. 1996). Naše zjištění podporují dřívější poznatky o účinku BPA na fosforylaci proteinů ve spermiích (Rahman et al. 2015).

Neméně významná je nepřímá expozice bisfenoly. Ve své práci se věnuji zejména nepřímé expozici prostřednictvím mateřského mléka. Důvodem jsou skutečnosti, že potomci vystavení vlivu bisfenolů prostřednictvím mateřského mléka nemají ještě plně vyvinutý detoxikační mechanismus jater a ledvin (Matalová et al. 2016), mateřské mléko je jejich výhradním potravním zdrojem a environmentální polutanty (většinou rozpustné v tucích) mohou být v mateřském mléce více koncentrované. Jen několik studií se zabývá expozicí bisfenoly prostřednictvím mateřského mléka (Balci et al. 2022; Ozkemahli et al. 2022; LaPlante et al. 2017; Li et al. 2016), ačkoli poporodní období je jedním z nejcitlivějších pro vývoj reprodukčních orgánů a buněk. Tento fakt je dalším důvodem volby tohoto způsobu expozice – časné juvenilní období považujeme za expoziční okno, které vede v dospělosti k tzv. idiopatické neplodnosti, tj. bez zjevné příčiny.

Pro účel studia jsme vytvořili model laboratorní myši exponované prostřednictvím mateřského mléka kojící samice. Na základě tohoto modelu vzniklo několik studií, první z nich se zabírala hodnocením dopadu bisfenolů na samičí reprodukci (Nevoral et al. 2021). V oocytech dospělých samic exponovaných během mléčné výživy byly analyzovány cytoskeletární a epigenetické markery. Cílem bylo odhalit změny v oocytech dospělých samic po expozici nízkými dávkami bisfenolů, neboť perinatální období je vysoce citlivé k zachování integrity DNA oocytů (Stringer et al. 2020) a epigenetickým změnám vedoucím k transgenerační dědičnosti (Pocar et al. 2017a; 2012). Dosažené výsledky dokazují negativní efekt na cytoskelet oocytů a dělicí vřeténko. Byly pozorovány také perzistující astrální mikrotubuly v ooplasmě zralých oocytů, která lze pozorovat v nezralých oocytech (Verlhac et al. 1993). Tyto částice lze považovat za nedegradovaný pericentriolární materiál nebo za prekuzory centrozómů v oogoniích (Sathananthan et al. 2000; Simerly et al. 2018). Kromě toho byla struktura dělicích vřetének podobná té, která byla pozorována po nadměrné polymeraci tubulinu doprovázené rozšířením vřeténka a přítomností astrálních mikrotubulů vycházejících z pólů vřeténka a/nebo cytoplazmatických ložisek, nalezených v kryokonzervovaných oocytech (Tamura et al. 2013). Přesto tato odchylka nemá souvislost aneuploidií (Forman et al. 2012) a tento fenotyp je zjevně dopadem expozice bisfenoly na primární oocyty během perinatálního expozičního okna, zatímco se tvoří primordiální folikuly (Niu a Spradling 2020). Pro posouzení epigenetických změn byl zvolen marker ustanovení a stability heterochromatinu, H3K27me2. Byl skutečně prokázán pokles H3K27me2 u oocytů dozrálých *in vitro*, což naznačuje potlačení ustanovení heterochromatinu, důležitého pro DNA integritu v oocytech (Nevoral et al. 2018b). Mimoto předpokládáme, že také další epigenetické značky jsou ovlivněny a komplexní změna epigenetického kódu v gametách může vést k modulaci epigenetické paměti a/nebo alteracím v genovém imprintingu, přičemž tato poškození jsou přenášena do dalších generací (Manikkam et al. 2013; Pocar et al. 2017b). Tyto výsledky jsou podpořeny i histologickými analýzami ovariální tkáně. Zatímco počet folikulů nebyl ovlivněn, interakce se somatickými buňkami nedokázala zachránit kvalitu oocytů, jak bylo popsáno v jiných studiích (Li et al. 2008). Toto zjištění je v souladu s faktem, že granulózní buňky se diferencují a utvářejí právě v prvních dnech perinatálního života (Niu a Spradling 2020). Ačkoli *in vivo* ovulované oocyty podléhají přirozené selekci na ovariu podle kvality dělicího vřeténka a metafázní destičky (Hornak et al. 2011; 2012), po expozici bisfenoly vykazovaly i *in vivo* ovulované oocyty poškození právě těchto struktur. Dokonce i vývojová

kompetence, měřená úspěšností časného embryonálního vývoje po partenogenetické aktivaci, byla u těchto oocytů negativně ovlivněna expozicí BPS. Tento výsledek potvrzuje dříve publikovanou práci popisující cytoskeletární a epigenetické poškození myších oocytů samic nepřímo exponovaných BPS odlišným způsobem: gestační expozice gravidní matky (Zhang et al. 2020). Na základě námi dosažených výsledků a dosavadního poznání lze nepřímou expozici endokrinními disruptory označit za nebezpečnou pro samičí reprodukci, která se s problémy potýká mnohem později, než dochází k expozici těmito látkami.

Nepřímá expozice bisfenoly prostřednictvím mateřského mléka negativně ovlivňuje také samčí reprodukci (Fenclová et al. 2022). Nedošlo k poškození základních parametrů spermioqramu jako je motilita a koncentrace, což je v souladu s dřívějším pozorováním (Ullah et al. 2019). Na druhou stranu, přímá expozice BPS tento efekt přinesla a měla za následek snížení motility (Řimnáčová et al. 2020). Z toho lze usuzovat, že motilita spermií je ovlivněna způsobem expozice a/nebo věkem exponovaného jedince. Jednotlivé bisfenoly mohou též zřejmě působit různými způsoby (Shi et al. 2017; Ullah et al. 2018). Myši samci byli exponováni bisfenoly v citlivém období, kdy dochází k diferenciaci zárodečných buněk testikulární tkáně a jejich dynamickým epigenetickým modifikacím (Nakata et al. 2015; Ernst et al., 2011). Pomocí markerů DNA poškození, γ H2AX a H3K4me2 (Wang et al. 2020; Zhang et al. 2022), byly posouzeny epigenetické změny testikulární tkáně a spermií. U spermií H3K4me2 slouží jako marker nezralosti (Štiavnická et al. 2019) a indukuje nedostatečné nahrazení histonů protaminy, což má za následek poruchy kondenzace heterochromatinu (Rahman et al. 2017). V testikulární tkáni může nahromadění H3K4me2 vést až ke sterilitě (Katz et al. 2009) a naše studie potvrzuje zvýšení H3K4me2 v testikulární tkáni i spermiích po expozici BPS prostřednictvím mateřského mléka. Naopak marker dvouřetězcových zlomů DNA a DNA integrity γ H2AX (Derijck et al. 2006; Kuo a Yang 2008; Sharma et al. 2012) nevykazoval očekávané zvýšení. Byla však pozorována zajímavá korelace mezi γ H2AX ve spermiích, paternálních prvojádrech zygot a v blastocystách. Z toho lze usuzovat, že poškození DNA je přenášeno dokonce již od spermatogonií testikulární tkáně do spermatid a spermií (Olsen et al. 2005). Vskutku další studie prokázaly přenos poškození spermatozoální DNA do časného embrya (Casanovas et al. 2019; Middelkamp et al. 2019; Rajabi et al. 2018; Sedó et al. 2017; Wyck et al. 2018). Nicméně, naše zjištění přináší poznatky, že tento přenos ovlivňuje natolik časnou zygotu, že předurčuje úspěšnost jejího dalšího embryonálního vývoje. Zjistili jsme, že podobně jako γ H2AX, i H3K4me2 je transferován ze spermií do paternálních prvojader. Paternální prvojádra

s vyšším výskytem poškození DNA vykazují opožděnou replikaci DNA nutnou pro fúzi prvojader (Gawecka et al. 2013), přičemž opravné mechanismy DNA se u myši aktivují až s aktivací embryonálního genomu ve fázi dvoubuněčného embrya (Lepikhov et al. 2011) a do té doby závisí oprava DNA paternálního prvojádra zygoty na oocytární zásobě proteinů a RNA (Newman et al. 2022). Naše studie, zabývající se kvalitou spermií samců exponovaných bisfenoly v perinatálním období prostřednictvím mateřského mléka, přinesla poznatky o vlivu na epigenetickou kvalitu testikulární tkáně, spermií i časného embryonálního vývoje po oplození oocytů těmito spermiemi.

Vzhledem k výše popsaným nálezům, kdy dochází zjevně k poškození germinálních buněk spíše než zrajících spermatocytů a spermií, jsme uvažovali poškození hemotestikulární bariéry (blood-testis barrier, BTB), která pozdější vývojová stádia spermiogeneze ochraňuje. Pro ověření naší hypotézy poškození BTB po perinatální expozici byla navržena histologická studie testikulární tkáně (Fenclová et al., under review), která přirozeně doplňuje naše dřívější poznatky. V kritickém období perinatálního vývoje totiž dochází k vytváření BTB, komponenty zodpovídající za správný průběh spermatogeneze. BTB omezuje paracelulární tok látek ze Sertolihových buněk (bazálního kompartmentu) do apikálního kompartmentu, kde probíhá post-meiotický vývoj zárodečných buněk (Yan Cheng a Mruk 2012). BTB je také důležitá pro obnovu spermatogonií, jejich mitotickou proliferaci a diferenciaci (Yan Cheng a Mruk 2012; Zhou a Wang 2022). Spermatogonie mají plný přístup k nutrientům, hormonům a dalším biomolekulám (včetně toxinů) z testikulárních cév v intersticiu varlat, zatímco vyvíjející spermatidy jsou chráněny BTB (Yan Cheng a Mruk 2012; Cheng et al. 2011). Preleptotenní spermatidy musí prostoupit BTB do apikálního kompartmentu testikulární tkáně, aby mohly zahájit meiotické dělení (Wen et al. 2018). Těsné (tight) a mezerové (gap) spoje jsou hlavními komponentami BTB. Pro posouzení mezerových spojů byl zvolen marker Connexin 43 (CX43) (Li et al. 2010; Pointis a Segretain 2005; Steger et al. 1999; Yawer et al. 2022; 2020), který vykázal nárůst v testikulární tkáni dospělých samců exponovaných prostřednictvím mateřského mléka v perinatálním období. U juvenilních samců nebyly prokázány žádné rozdíly. Toto zjištění může být vysvětleno tím, že BTB se utváří od první spermatogenní vlny na začátku puberty, dokud není ukončena proliferace Sertolihových buněk (Gerber et al. 2016). CX43 je důležitý protein pro remodelaci BTB během spermatogeneze v dospělosti (Li et al. 2010), proto lze předpokládat, že zvýšení CX43 je spojené se zvýšenou nutností oprav mezerových spojů v BTB (Mruk a Cheng 2015; Cheng et al. 2011; Yan Cheng a Mruk 2012). Markery těsných

spojů, *zonula occludens 1* (ZO-1) a occludin 11 (OCL) (Li et al. 2010; Hill et al. 2018; Mita et al. 2011) též vykazaly nárůst v BTB po expozici bisfenoly prostřednictvím mateřského mléka. Tento výsledek je v rozporu se dřívějším zjištěním poklesu těsných spojů u orálně exponovaných prepubertálních myší (Cao et al. 2020) a krys (Tian et al. 2017), avšak toto poškození bylo reverzibilní u zvířat vystavených nízkým dávkám bisfenolů. Kromě poškození BTB vyvolává expozice bisfenoly prostřednictvím mateřského mléka zvýšení mitochondriálního oxidativního stresu v testikulární tkáni v dospělosti, což potvrzují i dřívější studie (Richter 1992; Suzuki et al. 1999; Kaimal et al. 2021).

Na základě našich výsledků lze vyvodit závěr, že BPS a BPF nejsou bezpečnou alternativou BPA. Přímá expozice nízkými dávkami BPS negativně ovlivňuje kvalitu oocytů i spermií exponovaných jedinců. Jinak tomu není ani u expozice nepřímé prostřednictvím mateřského mléka. Dokonce i nízké dávky přijímané matkou poškozují proces oogeneze u samicích a spermatogeneze u samčích potomků. U samců je nepřímou expozicí ovlivněn i vývoj testikulární tkáně a formování BTB. Poškození testikulární tkáně vyústí v poškození spermatogeneze a spermie tyto negativní změny přenáší při oplození do zygoty, což má za následek selhávání časného embryonálního vývoje. Lze tvrdit, že expozice alternativními bisfenoly je možnou příčinou idiopatické infertility u obou pohlaví.

7 Závěr

Endokrinní disruptory jsou v dnešní době závažným problémem zapříčiňujícím infertilitu žen i mužů. V případě některých endokrinních disruptorů není jejich použití regulováno, přestože je známa jejich škodlivost. Jiné endokrinní disruptory zůstávají stále neproověřeny. Proto se tato práce zabývá bisfenoly BPS a BPF, které představují alternativu k dříve hojně využívanému BPA, jehož toxicita byla plně prokázána. Přestože přibývá důkazů o škodlivosti BPS a BPF, přičemž mnoho z nich přinesly předložené práce, jejich používání při výrobě plastických hmot, plechovek, termálního papíru a dalších produktů denní spotřeby není nijak regulováno. Zde komentované původní práce studují dopad BPS a BPF na reprodukci a popisují mechanismy, jakým jako endokrinní disruptory působí.

Náš výzkum splnil všechny cíle této práce a potvrdil hypotézy o škodlivosti alternativních bisfenolů BPS a BPF. Přímá expozice na experimentální samice myši negativně ovlivnila kvalitu myších oocytů, zejména tvorbu dělicího vřeténka, stabilitu genomu a epigenetické modifikace během meiotického zrání. Mimoto, expozice ovlivnila transkripční profil v nezralých GV oocytech, kdy zejména transkripty buněčného stresu a následného embryonálního vývoje podléhaly signifikantním změnám. U parametrů samčí reprodukce způsobila přímá expozice snížení motility, nárůst hladiny acetylce proteinů spermií a nárůst zlomů DNA v testikulární tkáni. Nepřímá expozice prostřednictvím mateřského mléka v období mléčné výživy způsobila v dospělosti samice malformace dělicího vřeténka, ovlivnila formování heterochromatinu a snížila vývojové kompetence myších oocytů. U samců tato nepřímá expozice negativně působila na stabilitu DNA spermií. Toto poškození bylo po oplození oocyty přeneseno do zygot a blastocyst. Poškození hemotestikulární bariéry bylo prokázáno po nepřímé expozici bisfenolům a je tak vysvětlením pro poškození spermií během spermatogeneze.

Závěrem lze tvrdit, že bisfenoly ovlivňují reprodukční schopnosti při přímé i nepřímé expozici, a fungují nejrůznějšími způsoby na reprodukční procesy samic a samců. Experimentální prací jsme prokázali změny epigenetického kódu, poškození cytoskeletu, integrity DNA a post-translačních modifikací proteinů. Přestože použité dávky byly velmi nízké, simulovaly experimenty právě reálné expozice člověka a výsledky tak lze považovat za alarmující ve vztahu k reprodukčnímu zdraví a příčinám neplodnosti. Další experimenty jsou zapotřebí k objasnění transgenerační dědičnosti změn chromatinu prostřednictvím

epigenetického kódu způsobených expozicí bisfenolům. Též je nezbytná striktní kontrola dopadů endokrinních disruptorů v reálných (tj. velmi nízkých) dávkách nejen na reprodukční schopnosti.

8 Seznam literatury

ABRAHAM, A. a P. CHAKRABORTY, 2019. A review on sources and health impacts of bisphenol A. *Reviews of Environmental Health*. 35 (2). 201 – 210.

ADHIKARI, Deepak a Kui LIU, 2013. Regulation of Quiescence and Activation of Oocyte Growth in Primordial Follicles. In: *Oogenesis* [online]. London: Springer London, s. 49–62. ISBN 9780857298263. Dostupné z: doi:10.1007/978-0-85729-826-3_4

AMDANI, Siti Normadhirah, Marc YESTE, Celine JONES a Kevin COWARD, 2015. Sperm factors and oocyte activation: Current controversies and considerations. *Biology of Reproduction* [online]. 93(2), 1–8. ISSN 15297268. Dostupné z: doi:10.1095/biolreprod.115.130609

BACHMANOV, Alexander A, Danielle R REED, Gary K BEAUCHAMP a Michael G TORDOFF, 2002. *Food Intake, Water Intake, and Drinking Spout Side Preference of 28 Mouse Strains*.

BAKER, T.G., 1963. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proceedings of the Royal Society B*. 39–44.

BALCI, Aylin, Gizem ÖZKEMAHLI, Pınar ERKEKOGLU, Dilara ZEYBEK, Nilgün YERSAL a Belma KOCER-GUMUSEL, 2022. Effects of prenatal and lactational bisphenol a and/or di(2-ethylhexyl) phthalate exposure on male reproductive system. *International Journal of Environmental Health Research* [online]. 32(4), 902–915. ISSN 13691619. Dostupné z: doi:10.1080/09603123.2020.1805416

BALHORN, Rod, 2007. The protamine family of sperm nuclear proteins. *Genome Biology* [online]. 8(9). ISSN 14747596. Dostupné z: doi:10.1186/gb-2007-8-9-227

BALHORN, Rod, Klaus STEGER, Martin BERGMANN, Hans Christian SCHUPPE, Stefanie NEUHAUSER a Monique C. BALHORN, 2018. New monoclonal antibodies specific for mammalian protamines P1 and P2. *Systems Biology in Reproductive Medicine* [online]. 64(6), 424–447. ISSN 19396376. Dostupné z: doi:10.1080/19396368.2018.1510063

BASKA, Kathleen M., Gaurishankar MANANDHAR, Dawn FENG, Yuksel AGCA,

Mark W. TENGOWSKI, Miriam SUTOVSKY, Young Joo YI a Peter SUTOVSKY, 2008. Mechanism of extracellular ubiquitination in the mammalian epididymis. *Journal of Cellular Physiology* [online]. **215**(3), 684–696. ISSN 00219541. Dostupné z: doi:10.1002/jcp.21349

BEKER-VAN WOUDEBERG, Anna R., Helena T.A. VAN TOL, Bernard A.J. ROELEN, Ben COLENBRANDER a Mart M. BEVERS, 2004. Estradiol and Its Membrane-Impermeable Conjugate (Estradiol-Bovine Serum Albumin) during In Vitro Maturation of Bovine Oocytes: Effects on Nuclear and Cytoplasmic Maturation, Cytoskeleton, and Embryo Quality. *Biology of Reproduction* [online]. **70**(5), 1465–1474. ISSN 00063363. Dostupné z: doi:10.1095/biolreprod.103.025684

BOWLES, Josephine a Peter KOOPMAN, 2007. Retinoic acid, meiosis and germ cell fate in mammals. *Development* [online]. **134**(19), 3401–3411. ISSN 09501991. Dostupné z: doi:10.1242/dev.001107

BRACKE, An, Kris PEETERS, Usha PUNJABI, David HOOGEWIJS a Sylvia DEWILDE, 2018. A search for molecular mechanisms underlying male idiopathic infertility. *Reproductive BioMedicine Online* [online]. **36**(3), 327–339. ISSN 14726491. Dostupné z: doi:10.1016/j.rbmo.2017.12.005

BROWER, Peter T. a Richard M. SCHULTZ, 1982. Intercellular communication between granulosa cells and mouse oocytes: Existence and possible nutritional role during oocyte growth. *Developmental Biology* [online]. **90**(1), 144–153. ISSN 00121606. Dostupné z: doi:10.1016/0012-1606(82)90219-6

BUKOVSKY, Antonin, M. R. CAUDLE, M SVETLIKOVA a N. B. UPADHYAYA, 2004. Origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human ovaries. *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. **2**(20), 233–265. ISSN 10643745. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1186/1477-7827-2-20

BUKOVSKY, Antonin, Michael R. CAUDLE, Marta SVETLIKOVA, Jay WIMALASENA, Maria E. AYALA a Roberto DOMINGUEZ, 2005. Oogenesis in adult mammals, including humans: A review. *Endocrine* [online]. **26**(3), 301–316. ISSN 15590100. Dostupné z: doi:10.1385/ENDO:26:3:301

CABRY, Rosalie, Philippe MERVIEL, Aicha MADKOUR, Elodie LEFRANC,

Florence SCHEFFLER, Rachel DESAILLOUD, Véronique BACH a Moncef BENKHALIFA, 2020. The impact of endocrine disruptor chemicals on oocyte/embryo and clinical outcomes in IVF. *Endocrine Connections* [online]. **9**(6), R134–R142. ISSN 20493614. Dostupné z: doi:10.1530/EC-20-0135

CAO, Tingshuai, Yuanchao CAO, Hongqiang WANG, Peitao WANG, Xinsheng WANG, Haitao NIU a Cuihua SHAO, 2020. The Effect of Exposure to Bisphenol A on Spermatozoon and the Expression of Tight Junction Protein Occludin in Male Mice. *Dose-Response* [online]. **18**(2), 1–6. ISSN 15593258. Dostupné z: doi:10.1177/1559325820926745

CARRELL, Douglas T., Benjamin R. EMERY a Sue HAMMOUD, 2007. Altered protamine expression and diminished spermatogenesis: What is the link? *Human Reproduction Update* [online]. **13**(3), 313–327. ISSN 13554786. Dostupné z: doi:10.1093/humupd/dml057

CASANOVAS, Aida, Jordi RIBAS-MAYNOU, Sandra LARA-CERRILLO, Ana Raquel JIMENEZ-MACEDO, Olga HORTAL, Jordi BENET, Joan CARRERA a Agustín GARCÍA-PEIRÓ, 2019. Double-stranded sperm DNA damage is a cause of delay in embryo development and can impair implantation rates. *Fertility and Sterility* [online]. **111**(4), 699-707.e1. ISSN 15565653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2018.11.035

CASTILLO, Judit, Luke SIMON, Sara DE MATEO, Sheena LEWIS a Rafael OLIVA, 2011. Protamine/DNA ratios and DNA damage in native and density gradient centrifuged sperm from infertile patients. *Journal of Andrology* [online]. **32**(3), 324–332. ISSN 19394640. Dostupné z: doi:10.2164/jandrol.110.011015

CAVALERA, Federica, Mario ZANONI, Valeria MERICO, Lucia SACCHI, Riccardo BELLAZZI, Silvia GARAGNA a Maurizio ZUCCOTTI, 2019. Chromatin organization and timing of polar body I extrusion identify developmentally competent mouse oocytes. *International Journal of Developmental Biology* [online]. **63**(3–5), 245–251. ISSN 02146282. Dostupné z: doi:10.1387/ijdb.180362sg

CHEN, Da, Kurunthachalam KANNAN, Hongli TAN, Zhengui ZHENG, Yong Lai FENG, Yan WU a Margaret WIDELKA, 2016. Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity - A Review. *Environmental Science and Technology* [online]. **50**(11), 5438–5453. ISSN 15205851. Dostupné

z: doi:10.1021/acs.est.5b05387

CHENG, C. Yan, Elissa W.P. WONG, Pearl P.Y. LIE, Michelle W.M. LI, Dolores D. MRUK, Helen H.N. YAN, Ka-Wai MOK, Jayakanthan MANNU, Premendu P. MATHUR, Wing-Yee LUI, Will M. LEE, Michele BONANOMI a Bruno SILVESTRINI, 2011. Regulation of blood-testis barrier dynamics by desmosome, gap junction, hemidesmosome and polarity proteins. *Spermatogenesis* [online]. **1**(2), 105–115. Dostupné z: doi:10.4161/spmg.1.2.15745

CLERMONT, Y. a C. P. LEBLOND, 1959. Differentiation and renewal of spermatogonia in the monkey, *Macacus rhesus*. *American Journal of Anatomy* [online]. **104**(2), 237–273. ISSN 15530795. Dostupné z: doi:10.1002/aja.1001040204

CLERMONT, Y. a C. P. LEBLOND, 2010. Spermatogonial stem cell regulation and spermatogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [online]. **365**(1546), 1663–1678. ISSN 14712970. Dostupné z: doi:10.1098/rstb.2010.0026

CLERMONT, Yves, 1966. Renewal of spermatogonia in man. *American Journal of Anatomy* [online]. **118**(2), 509–524. ISSN 15530795. Dostupné z: doi:10.1002/aja.1001180211

CLERMONT, Yves a Michael ANTAR, 1973. Duration of the cycle of the seminiferous epithelium and the spermatogonial renewal in the monkey *Macaca arctoides*. *American Journal of Anatomy* [online]. **136**(2), 153–165. ISSN 15530795. Dostupné z: doi:10.1002/aja.1001360204

CLIFTON, D. K. a W. J. BREMNER, 1983. The Effect of Testicular X-irradiation on Spermatogenesis in Man: A Comparison with the Mouse. *Journal of Andrology* [online]. **4**(6), 387–392. ISSN 19394640. Dostupné z: doi:10.1002/j.1939-4640.1983.tb00765.x

DA SILVA, Beatriz Souza, Carla Bruna PIETROBON, Iala Milene BERTASSO, Bruna Pereira LOPES, Janaine Cavalcanti CARVALHO, Nayara PEIXOTO-SILVA, Tatianne Rosa SANTOS, Sylvio CLAUDIO-NETO, Alex Christian MANHÃES, Elaine OLIVEIRA, Egberto Gaspar DE MOURA a Patrícia Cristina LISBOA, 2019. Short and long-term effects of bisphenol S (BPS) exposure during pregnancy and lactation on plasma lipids, hormones, and behavior in rats. *Environmental Pollution* [online]. **250**, 312–322. ISSN 18736424. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2019.03.100

DAKKAK W, Tonelli AR., 2017. Epigenetic regulation of the histone-to-protamine transition during spermiogenesis. *Physiology & behavior* [online]. **176**(5), 139–148. Dostupné z: doi:10.1016/j.physbeh.2017.03.040

DANZL, Erica, Kazunari SEI, Satoshi SODA, Michihiko IKE a Masanori FUJITA, 2009. Biodegradation of bisphenol A, bisphenol F and bisphenol S in seawater. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. **6**(4), 1472–1484. ISSN 16604601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph6041472

DE FELICI, Massimo, 2013. Origin, Migration, and Proliferation of Human Primordial Germ Cells. In: *Oogenesis* [online]. London: Springer London, s. 19–37. ISBN 9780857298263. Dostupné z: doi:10.1007/978-0-85729-826-3_2

DE MATEO, Sara, Judit CASTILLO, Josep Maria ESTANYOL, José Luis BALLESCÀ a Rafael OLIVA, 2011. Proteomic characterization of the human sperm nucleus. *Proteomics* [online]. **11**(13), 2714–2726. ISSN 16159853. Dostupné z: doi:10.1002/pmic.201000799

DE ROOIJ, Dirk G. a Michael D. GRISWOLD, 2012. Questions about spermatogonia posed and answered since 2000. *Journal of Andrology* [online]. **33**(6), 1085–1095. ISSN 01963635. Dostupné z: doi:10.2164/jandrol.112.016832

DE VRIES, Marieke, Sanne VOSTERS, Gerard MERKX, Kathleen D’HAUWERS, Derick G. WANSINK, Liliana RAMOS a Peter DE BOER, 2012. Human male meiotic sex chromosome inactivation. *PLoS ONE* [online]. **7**(2). ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0031485

DEL MORAL, Lydie Ivry, Ludovic LE CORRE, H. POIRIER, I. NIOT, T. TRUNTZER, J . F. MERLIN, P. ROUIMI, P. BESNARD, R. RAHMANI a M. C. CHAGNON, 2016. Obesogen effects after perinatal exposure of 4,4'-sulfonyldiphenol (Bisphenol S) in C57BL/6 mice. *Toxicology* [online]. **357–358**, 11–20. ISSN 18793185. Dostupné z: doi:10.1016/j.tox.2016.05.023

DELFOSE, Vanessa, Marina GRIMALDI, Jean Luc PONS, Abdelhay BOULAHTOUF, Albane LE MAIRE, Vincent CAVAILLES, Gilles LABESSE, William BOURGUET a Patrick BALAGUER, 2012. Structural and mechanistic insights into bisphenols action provide guidelines for risk assessment and discovery of bisphenol A

substitutes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **109**(37), 14930–14935. ISSN 00278424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1203574109

DERIJCK, Alwin A.H.A., Godfried W. VAN DER HEIJDEN, Maud GIELE, Marielle E.P. PHILIPPENS, Casandra C.A.W. VAN BAVEL a Peter DE BOER, 2006. γ H2AX signalling during sperm chromatin remodelling in the mouse zygote. *DNA Repair* [online]. **5**(8), 959–971. ISSN 15687864. Dostupné z: doi:10.1016/j.dnarep.2006.05.043

DERIJCK, Alwin, Godfried VAN DER HEIJDEN, Maud GIELE, Marielle PHILIPPENS a Peter DE BOER, 2008. DNA double-strand break repair in parental chromatin of mouse zygotes, the first cell cycle as an origin of de novo mutation. *Human Molecular Genetics* [online]. **17**(13), 1922–1937. ISSN 09646906. Dostupné z: doi:10.1093/hmg/ddn090

DIAMANTI-KANDARAKIS, Evanthia, Jean Pierre BOURGUIGNON, Linda C. GIUDICE, Russ HAUSER, Gail S. PRINS, Ana M. SOTO, R. Thomas ZOELLER a Andrea C. GORE, 2009. Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement. *Endocrine Reviews* [online]. **30**(4), 293–342. ISSN 0163769X. Dostupné z: doi:10.1210/er.2009-0002

DIMITRIADIS, I., L. MINGUEZ-ALARCON, P. WILLIAMS, I. SOUTER, T.L. TOTH, J.B. FORD a R. HAUSER, 2017. Follicular fluid (FF) phenol concentrations and early in vitro fertilization (IVF) outcomes among women seeking fertility care. *Fertility and Sterility* [online]. **108**(3), e89. ISSN 00150282. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2017.07.276

DOSHI, Tanvi, Criselle D'SOUZA a Geeta VANAGE, 2013. Aberrant DNA methylation at Igf2-H19 imprinting control region in spermatozoa upon neonatal exposure to bisphenol A and its association with post implantation loss. *Molecular Biology Reports* [online]. **40**(8), 4747–4757. ISSN 03014851. Dostupné z: doi:10.1007/s11033-013-2571-x

EFSA, 2015. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal* [online]. **13**(1). ISSN 18314732. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2015.3978

EHMCKE, Jens a Stefan SCHLATT, 2006. A revised model for spermatological

expansion in man: Lessons from non-human primates. *Reproduction* [online]. **132**(5), 673–680. ISSN 14701626. Dostupné z: doi:10.1530/rep.1.01081

EHRlich, Shelley, Antonia M. CALAFAT, Olivier HUMBLET, Thomas SMITH a Russ HAUSER, 2014. Handling of Thermal Receipts as a Source of Exposure to Bisphenol A. *HHS Public Access* [online]. **311**(8), 859–860. Dostupné z: doi:10.1016/j.physbeh.2017.03.040

ELADAK, Soria, Tiphany GRISIN, Delphine MOISON, Marie Justine GUERQUIN, Thierry N'TUMBA-BYN, Stéphanie POZZI-GAUDIN, Alexandra BENACHI, Gabriel LIVERA, Virginie ROUILLER-FABRE a René HABERT, 2015. A new chapter in the bisphenol a story: Bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertility and Sterility* [online]. **103**(1), 11–21. ISSN 15565653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2014.11.005

EPPIG, J. J., 1991. Maintenance of meiotic arrest and the induction of oocyte maturation in mouse oocyte-granulosa cell complexes developed in vitro from preantral follicles. *Biology of Reproduction* [online]. **45**(6), 824–830. ISSN 00063363. Dostupné z: doi:10.1095/biolreprod45.6.824

EPPIG, John J., 2018. Reproduction: Oocytes Call, Granulosa Cells Connect. *Current Biology* [online]. **28**(8), R354–R356. ISSN 09609822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2018.03.005

EPPIG, John J., Marilyn O'BRIEN a Karen WIGGLESWORTH, 1996. Mammalian oocyte growth and development in vitro. *Molecular Reproduction and Development* [online]. **44**(2), 260–273. ISSN 1040452X. Dostupné z: doi:10.1002/(SICI)1098-2795(199606)44:2<260::AID-MRD17>3.0.CO;2-6

EVENSON, Donald a Lorna JOST, 2000. Sperm Chromatin Structure Assay for Fertility Assessment. *Current Protocols in Cytometry*. **13**(1), 1–27.

EWEN, Katherine A. a Peter KOOPMAN, 2010. Mouse germ cell development: From specification to sex determination. *Molecular and Cellular Endocrinology* [online]. **323**(1), 76–93. ISSN 03037207. Dostupné z: doi:10.1016/j.mce.2009.12.013

FAYOMI, Adetunji P. a Kyle E. ORWIG, 2018. Spermatogonial stem cells and spermatogenesis in mice, monkeys and men. *Stem Cell Research* [online]. **29**(March), 207–

214. ISSN 18767753. Dostupné z: doi:10.1016/j.scr.2018.04.009

FENCLOVÁ, Tereza, Hedvika ŘIMNÁČOVÁ, Marouane CHEMEK, Jiřina HAVRÁNKOVÁ, Pavel KLEIN, Milena KRÁLÍČKOVÁ a Jan NEVORAL, 2022. Nursing Exposure to Bisphenols as a Cause of Male Idiopathic Infertility. *Frontiers in Physiology* [online]. **13**(February). ISSN 1664-042X. Dostupné z: doi:10.3389/fphys.2022.725442

FENG, Yixing, Zhihao JIAO, Jiachen SHI, Ming LI, Qiaozhen GUO a Bing SHAO, 2016. Effects of bisphenol analogues on steroidogenic gene expression and hormone synthesis in H295R cells. *Chemosphere* [online]. **147**, 9–19. ISSN 18791298. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2015.12.081

FERGUSON-SMITH, A. C. a M. A. SURANI, 2001. Imprinting and the epigenetic asymmetry between parental genomes. *Science* [online]. **293**(5532), 1086–1089. ISSN 00368075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1064020

FERNANDEZ-CAPETILLO, Oscar, Shantha K. MAHADEVAIAH, Arkady CELESTE, Peter J. ROMANIENKO, R. Daniel CAMERINI-OTERO, William M. BONNER, Katia MANOVA, Paul BURGOYNE a André NUSSENZWEIG, 2003. H2AX is required for chromatin remodeling and inactivation of sex chromosomes in male mouse meiosis. *Developmental Cell* [online]. **4**(4), 497–508. ISSN 15345807. Dostupné z: doi:10.1016/S1534-5807(03)00093-5

FINDLAY, J.K., J.B. KERR, K. BRITT, S.H. LIEW, E.R. SIMPSON, D. ROSAIRO a A. DRUMMOND, 2009. Ovarian physiology : follicle development , oocyte and hormone relationships. *Animal Reproduction* [online]. **6**, 16–19. Dostupné z: <https://www.animal-reproduction.org/journal/animreprod/article/5b5a606bf7783717068b4759>

FORMAN, Eric J., Xinying LI, Kathleen M. FERRY, Katherine SCOTT, Nathan R. TREFF a Richard T. SCOTT, 2012. Oocyte vitrification does not increase the risk of embryonic aneuploidy or diminish the implantation potential of blastocysts created after intracytoplasmic sperm injection: A novel, paired randomized controlled trial using DNA fingerprinting. *Fertility and Sterility* [online]. **98**(3), 644–649. ISSN 00150282. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2012.04.028

FUJIMOTO, Toyoaki, Yukihiro MIYAYAMA a Masatoshi FUYUTA, 1977. The origin, migration and fine morphology of human primordial germ cells. *The Anatomical*

Record [online]. **188**(3), 315–329. ISSN 10970185. Dostupné z: doi:10.1002/ar.1091880305

FULKA JR., J., J. MOTLÍK, J. FULKA a F. JÍLEK, 1981. Effect of cycloheximide on nuclear maturation of pig and mouse oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*. **77**(1), 281–285.

GAUCHER, Jonathan, Fayçal BOUSSOUAR, Emilie MONTELLIER, Sandrine CURTET, Thierry BUCHOU, Sarah BERTRAND, Patrick HERY, Sylvie JOUNIER, Arnaud DEPAUX, Anne Laure VITTE, Philippe GUARDIOLA, Karin PERNET, Alexandra DEBERNARDI, Fabrice LOPEZ, Hélène HOLOTA, Jean IMBERT, Debra J. WOLGEMUTH, Matthieu GÉRARD, Sophie ROUSSEAU a Saadi KHOCHBIN, 2012. Bromodomain-dependent stage-specific male genome programming by Brdt. *EMBO Journal* [online]. **31**(19), 3809–3820. ISSN 02614189. Dostupné z: doi:10.1038/emboj.2012.233

GAWECKA, Joanna E., Joel MARH, Michael ORTEGA, Yasuhiro YAMAUCHI, Monika A. WARD a W. Steven WARD, 2013. Mouse Zygotes Respond to Severe Sperm DNA Damage by Delaying Paternal DNA Replication and Embryonic Development. *PLoS ONE* [online]. **8**(2). ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0056385

GEORGADAKI, Katerina, Nikolas KHOURY, Demetrios A. SPANDIDOS a Vasilis ZOUMPOURLIS, 2016. The molecular basis of fertilization (Review). *International Journal of Molecular Medicine* [online]. **38**(4), 979–986. ISSN 1791244X. Dostupné z: doi:10.3892/ijmm.2016.2723

GERBER, Jonathan, Julia HEINRICH a Ralph BREHM, 2016. Blood-testis barrier and Sertoli cell function: Lessons from SCCx43KO mice. *Reproduction* [online]. **151**(2), R15–R27. ISSN 17417899. Dostupné z: doi:10.1530/REP-15-0366

GINSBURG, M., M. H.L. SNOW a A. MCLAREN, 1990. Primordial germ cells in the mouse embryo during gastrulation. *Development* [online]. **110**(2), 521–528. ISSN 09501991. Dostupné z: doi:10.1242/dev.110.2.521

GLAUSIUS, Josie, 2014. The Plastic Puzzle. *Nature*. **508**, 306–308.

GOVIN, Jérôme, Emmanuelle ESCOFFIER, Sophie ROUSSEAU, Lauriane KUHN, Myriam FERRO, Julien THÉVENON, Raffaella CATENA, Irwin DAVIDSON,

Jérôme GARIN, Saadi KHOCHBIN a Cécile CARON, 2007. Pericentric heterochromatin reprogramming by new histone variants during mouse spermiogenesis. *Journal of Cell Biology* [online]. **176**(3), 283–294. ISSN 00219525. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.200604141

GRASSELLI, F., L. BARATTA, L. BAIONI, S. BUSSOLATI, R. RAMONI, S. GROLLI a G. BASINI, 2010. Bisphenol A disrupts granulosa cell function. *Domestic Animal Endocrinology* [online]. **39**(1), 34–39. ISSN 07397240. Dostupné z: doi:10.1016/j.domaniend.2010.01.004

GREEN, G. R., R. BALHORN, D. L. POCCIA a N. B. HECHT, 1994. Synthesis and processing of mammalian protamines and transition proteins. *Molecular Reproduction and Development* [online]. **37**(3), 255–263. ISSN 10982795. Dostupné z: doi:10.1002/mrd.1080370303

GRISWOLD, Michael D., 2016. Spermatogenesis: The commitment to Meiosis. *Physiological Reviews* [online]. **96**(1), 1–17. ISSN 15221210. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.00013.2015

GRØNDAHL, Christian, Jan L. OTTESEN, Monika LESSL, Peter FAARUP, Anthony MURRAY, Frederik C. GRØNVALD, Christa HEGELE-HARTUNG a Ian AHNFELT-RØNNE, 1998. Meiosis-activating sterol promotes resumption of meiosis in mouse oocytes cultured in vitro in contrast to related oxysterols. *Biology of Reproduction* [online]. **58**(5), 1297–1302. ISSN 00063363. Dostupné z: doi:10.1095/biolreprod58.5.1297

HAMILTON, T. R.S., R. SIMÕES, C. M. MENDES, M. D. GOISSIS, E. NAKAJIMA, E. A.L. MARTINS, J. A. VISINTIN a M. E.O.A. ASSUMPÇÃO, 2019. Detection of protamine 2 in bovine spermatozoa and testicles. *Andrology* [online]. **7**(3), 373–381. ISSN 20472927. Dostupné z: doi:10.1111/andr.12610

HAMMOUD, Saher Sue, David A. NIX, Haiying ZHANG, Jahnvi PURWAR, Douglas T. CARRELL a Bradley R. CAIRNS, 2009. Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. *Nature* [online]. **460**(7254), 473–478. ISSN 00280836. Dostupné z: doi:10.1038/nature08162

HAZZOURI, Mira, Christophe PIVOT-PAJOT, Anne Karen FAURE, Yves USSON, Roberte PELLETIER, Bernard SÈLE, Saadi KHOCHBIN a Sophie

ROUSSEAU, 2000. Regulated hyperacetylation of core histones during mouse spermatogenesis: Involvement of histone-deacetylases. *European Journal of Cell Biology* [online]. **79**(12), 950–960. ISSN 01719335. Dostupné z: doi:10.1078/0171-9335-00123

HERMANN, B.P., M. SUKHWANI, M.C. HANSEL a K.E. ORWIG, 2010. Spermatogonial stem cells in higher primates: are there differences from those in rodents? *Reproduction* [online]. **139**, 479–493. ISSN 15378276. Dostupné z: doi:10.1530/REP-09-0255.Spermatogonial

HILL, Peter W.S., Harry G. LEITCH, Cristina E. REQUENA, Zhiyi SUN, Rachel AMOUROUX, Monica ROMAN-TRUFERO, Malgorzata BORKOWSKA, Jolyon TERRAGNI, Romualdas VAISVILA, Sarah LINNETT, Hakan BAGCI, Gopuraja DHARMALINGHAM, Vanja HABERLE, Boris LENHARD, Yu ZHENG, Sriharsa PRADHAN a Petra HAJKOVA, 2018. Epigenetic reprogramming enables the transition from primordial germ cell to gonocyte. *Nature* [online]. **555**(7696), 392–396. ISSN 14764687. Dostupné z: doi:10.1038/nature25964

HIURA, Hitoshi, Hiroaki OKAE, Hatsune CHIBA, Naoko MIYAUCHI, Fumi SATO, Akiko SATO a Takahiro ARIMA, 2014. Imprinting methylation errors in ART. *Reproductive Medicine and Biology* [online]. **13**(4), 193–202. ISSN 14470578. Dostupné z: doi:10.1007/s12522-014-0183-3

HOLSTEIN, Adolf Friedrich, Wolfgang SCHULZE a Michail DAVIDOFF, 2003. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. **1**, 1–16. ISSN 14777827. Dostupné z: doi:10.1186/1477-7827-1-107

HORNAK, Miroslav, Michal JESETA, Petra MUSILOVA, Antonin PAVLOK, Michal KUBELKA, Jan MOTLIK, Jiri RUBES a Martin ANGER, 2011. Frequency of aneuploidy related to age in porcine oocytes. *PLoS ONE* [online]. **6**(4), 2–6. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0018892

HORNAK, Miroslav, Eva ORACOVA, Pavlina HULINSKA, Leona URBANKOVA a Jiri RUBES, 2012. Aneuploidy detection in pigs using comparative genomic hybridization: From the oocytes to blastocysts. *PLoS ONE* [online]. **7**(1), 1–6. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0030335

HUANG, Y. Q., C. K.C. WONG, J. S. ZHENG, H. BOUWMAN, R. BARRA, B. WAHLSTRÖM, L. NERETIN a M. H. WONG, 2012. Bisphenol A (BPA) in China: A review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment International* [online]. **42**(1), 91–99. ISSN 18736750. Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2011.04.010

HUCKINS, C. a E. F. OAKBERG, 1978. Morphological and quantitative analysis of spermatogonia in mouse testes using whole mounted seminiferous tubules. II. The irradiated testes. *The Anatomical Record* [online]. **192**(4), 529–541. ISSN 10970185. Dostupné z: doi:10.1002/ar.1091920407

HUNT, Patricia A. a Terry J. HASSOLD, 2008. Human female meiosis: what makes a good egg go bad? *Trends in Genetics* [online]. **24**(2), 86–93. ISSN 01689525. Dostupné z: doi:10.1016/j.tig.2007.11.010

HYTTEL, P., T. FAIR, H. CALLESEN a T. GREVE, 1997. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. *Therionology*. **47**, 23–32.

IKE, M., M. Y. CHEN, Erica DANZL, K. SEI a M. FUJITA, 2006. Biodegradation of a variety of bisphenols under aerobic and anaerobic conditions. *Water Science and Technology* [online]. **53**(6), 153–159. ISSN 02731223. Dostupné z: doi:10.2166/wst.2006.189

IKEZUKI, Yumiko, Osamu TSUTSUMI, Yasushi TAKAI, Yoshimasa KAMEI a Yuji TAKETANI, 2002. Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure. *Human Reproduction* [online]. **17**(11), 2839–2841. ISSN 02681161. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/17.11.2839

JIN, Hangbiao a Lingyan ZHU, 2016. Occurrence and partitioning of bisphenol analogues in water and sediment from Liaohe River Basin and Taihu Lake, China. *Water Research* [online]. **103**, 343–351. ISSN 18792448. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2016.07.059

JOHNSON, Joshua, Jessamyn BAGLEY, Malgorzata SKAZNIK-WIKIEL, Ho Joon LEE, Gregor B. ADAMS, Yuichi NIKURA, Katherine S. TSCHUDY, Jacqueline Canning TILLY, Maria L. CORTES, Randolf FORKERT, Thomas SPITZER, John IACOMINI, David T. SCADDEN a Jonathan L. TILLY, 2005. Oocyte generation in adult mammalian

ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell* [online]. **122**(2), 303–315. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2005.06.031

JOHNSON, Joshua, Jacqueline CANNING, Tomoko KANEKO, James K. PRU a Jonathan L. TILLY, 2004. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* [online]. **430**(7003), 1062. ISSN 00280836. Dostupné z: doi:10.1038/nature02868

KAIMAL, Amrita, Maryam H. AL MANSI, Josephine Bou DAGHER, Catherine POPE, Marissa G. VARGHESE, Thomas B. RUDI, Ansley E. ALMOND, Loren A. CAGLE, Hermela K. BEYENE, William T. BRADFORD, Benjamin B. WHISNANT, Baobsom D.K. BOUGOUMA, Karim J. RIFAI, Yen Jun CHUANG, Elyssa J. CAMPBELL, Abhyuday MANDAL, Puliyur S. MOHANKUMAR a Sheba M.J. MOHANKUMAR, 2021. Prenatal exposure to bisphenols affects pregnancy outcomes and offspring development in rats. *Chemosphere* [online]. **276**, 130118. ISSN 18791298. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2021.130118

KALLIVRETAKI, Evangelia, Rik EGGEN, Stephan NEUHAUSS, Martin ALBERTI, Ulf KAUSCH a Helmut SEGNER, 2006. Aromatase in zebrafish: A potential target for endocrine disrupting chemicals. *Marine Environmental Research* [online]. **62**(SUPPL. 1), 187–190. ISSN 01411136. Dostupné z: doi:10.1016/j.marenvres.2006.04.003

KANITZ, Wilhelm, Klaus Peter BRÜSSOW, Frank BECKER, Helmut TORNER, Falk SCHNEIDER, Michal KUBELKA a Wolfgang TOMEK, 2001. Comparative Aspects of Follicular Development, Follicular and Oocyte Maturation and Ovulation in Cattle and Pigs. *Archiv für Tierzucht*. **44**(1), 9–23. ISSN 0003-9438.

KARRER, Cecile, Monica ANDREASSEN, Natalie VON GOETZ, Friederike SONNET, Amrit Kaur SAKHI, Konrad HUNGERBÜHLER, Hubert DIRVEN a Trine HUSØY, 2020. The EuroMix human biomonitoring study: Source-to-dose modeling of cumulative and aggregate exposure for the bisphenols BPA, BPS, and BPF and comparison with measured urinary levels. *Environment International* [online]. **136**(July 2019), 105397. ISSN 18736750. Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2019.105397

KATZ, David J, T Matthew EDWARDS, Valerie REINKE a William G KELLY, 2009. A *C. elegans* LSD1 Demethylase Contributes to Germline Immortality by

Reprogramming Epigenetic Memory. *Cell* [online]. **137**(2), 308–320. ISSN 0092-8674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2009.02.015

KIM, Jee Hyun, Byung Chul JEE, Jang Mi LEE, Chang Suk SUH a Seok Hyun KIM, 2014. Histone acetylation level and histone Acetyltransferase/Deacetylase activity in Ejaculated sperm from Normozoospermic Men. *Yonsei Medical Journal* [online]. **55**(5), 1333–1340. ISSN 05135796. Dostupné z: doi:10.3349/ymj.2014.55.5.1333

KINCH, Cassandra D., Kingsley IBHAZEHEBO, Joo Hyun JEONG, Hamid R. HABIBI a Deborah M. KURRASCH, 2015. Low-dose exposure to bisphenol a and replacement bisphenol S induces precocious hypothalamic neurogenesis in embryonic zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **112**(5), 1475–1480. ISSN 10916490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1417731112

KIRKPATRICK, Gordon, Victor CHOW a Sai MA, 2012. Meiotic recombination, synapsis, meiotic inactivation and sperm aneuploidy in a chromosome 1 inversion carrier. *Reproductive BioMedicine Online* [online]. **24**(1), 91–100. ISSN 14726483. Dostupné z: doi:10.1016/j.rbmo.2011.09.013

KITAMURA, Shigeyuki, Tomoharu SUZUKI, Seigo SANOH, Ryuki KOHTA, Norimasa JINNO, Kazumi SUGIHARA, Shin'ichi YOSHIHARA, Nariaki FUJIMOTO, Hiromitsu WATANABE a Shigeru OHTA, 2005. Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicological Sciences* [online]. **84**(2), 249–259. ISSN 10966080. Dostupné z: doi:10.1093/toxsci/kfi074

KLEIN, Martin, Lenka LAPIDES, Denisa FECMANOVA a Ivan VARGA, 2021. Novel cellular entities and their role in the etiopathogenesis of female idiopathic infertility-a review article. *Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology* [online]. **48**(3), 461–465. ISSN 03906663. Dostupné z: doi:10.31083/j.ceog.2021.03.2395

KLUIN, Ph M. a D. G. DE ROOIJ, 1981. A comparison between the morphology and cell kinetics of gonocytes and adult type undifferentiated spermatogonia in the mouse. *International Journal of Andrology* [online]. **4**(1–6), 475–493. ISSN 13652605. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2605.1981.tb00732.x

KNEZ, Jure, Roman KRANVOGL, Barbara Pregl BREZNIK, Ernest VONČINA a Veljko VLAISAVLJEVIĆ, 2014. Are urinary bisphenol A levels in men related to semen

quality and embryo development after medically assisted reproduction? *Fertility and Sterility* [online]. **101**(1). ISSN 15565653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2013.09.030

KRETZER, D M De, K L LOVELAND, A MEINHARDT, D SIMORANGKIR a N WREFORD, 1998. Spermatogenesis. *Human Reproduction* [online]. **13**(Supplement 1). Dostupné z: https://academic.oup.com/humrep/article/13/suppl_1/1/788755?login=true

KUO, Linda J. a Li Xi YANG, 2008. γ -H2AX- A novel biomaker for DNA double-strand breaks. *In Vivo*. **22**(3), 305–310. ISSN 0258851X.

KURILO, L. F., 1981. Oogenesis in antenatal development in man. *Human Genetics* [online]. **57**(1), 86–92. ISSN 03406717. Dostupné z: doi:10.1007/BF00271175

KUTCHY, N. A., E. S.B. MENEZES, A. CHIAPPETTA, W. TAN, R. W. WILLS, A. KAYA, E. TOPPER, A. A. MOURA, A. D. PERKINS a E. MEMILI, 2018. Acetylation and methylation of sperm histone 3 lysine 27 (H3K27ac and H3K27me3) are associated with bull fertility. *Andrologia* [online]. **50**(3), 1–11. ISSN 14390272. Dostupné z: doi:10.1111/and.12915

LAMBROT, Romain, Keith SIKLENKA, Christine LAFLEUR a Sarah KIMMINS, 2019. The genomic distribution of histone H3K4me2 in spermatogonia is highly conserved in sperm. *Biology of Reproduction* [online]. **100**(6), 1661–1672. ISSN 15297268. Dostupné z: doi:10.1093/biolre/ioz055

LAPLANTE, Charlotte D., Mary C. CATANESE, Ruby BANSAL a Laura N. VANDENBERG, 2017. Bisphenol S alters the lactating mammary gland and nursing behaviors in mice exposed during pregnancy and lactation. *Endocrinology* [online]. **158**(10), 3448–3461. ISSN 19457170. Dostupné z: doi:10.1210/en.2017-00437

LE FOL, Vincent, Selim AÏT-AÏSSA, Nicolas CABATON, Laurence DOLO, Marina GRIMALDI, Patrick BALAGUER, Elisabeth PERDU, Laurent DEBRAUWER, François BRION a Daniel ZALKO, 2015. Cell-specific biotransformation of benzophenone-2 and bisphenol-s in zebrafish and human in vitro models used for toxicity and estrogenicity screening. *Environmental Science and Technology* [online]. **49**(6), 3860–3868. ISSN 15205851. Dostupné z: doi:10.1021/es505302c

LEE, Sunggyu, Chunyang LIAO, Geum Ju SONG, Kongtae RA, Kurunthachalam KANNAN a Hyo Bang MOON, 2015. Emission of bisphenol analogues including bisphenol

A and bisphenol F from wastewater treatment plants in Korea. *Chemosphere* [online]. **119**, 1000–1006. ISSN 18791298. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2014.09.011

LEPIKHOV, Konstantin, Mark WOSSIDLO, Julia ARAND a Jörn WALTER, 2011. DNA methylation reprogramming and DNA repair in the mouse zygote. *International Journal of Developmental Biology* [online]. **54**(11–12), 1565–1574. ISSN 02146282. Dostupné z: doi:10.1387/ijdb.103206kl

LI, De Kun, Zhijun ZHOU, Maohua MIAO, Yonghua HE, Jintao WANG, Jeannette FERBER, Lisa J. HERRINTON, Ersheng GAO a Wei YUAN, 2011. Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. *Fertility and Sterility* [online]. **95**(2), 625–630.e4. ISSN 00150282. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2010.09.026

LI, Jing, Nan SHENG, Ruina CUI, Yixing FENG, Bing SHAO, Xuejiang GUO, Hongxia ZHANG a Jiayin DAI, 2016. Gestational and lactational exposure to bisphenol AF in maternal rats increases testosterone levels in 23-day-old male offspring. *Chemosphere* [online]. **163**, 552–561. ISSN 18791298. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2016.08.059

LI, Michelle W.M., Dolores D. MRUK, Will M. LEE a C. Yan CHENG, 2010. Connexin 43 is critical to maintain the homeostasis of the blood-testis barrier via its effects on tight junction reassembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **107**(42), 17998–18003. ISSN 00278424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1007047107

LI, Qinglei, Laurie J. MCKENZIE a Martin M. MATZUK, 2008. Revisiting oocyte-somatic cell interactions: In search of novel intrafollicular predictors and regulators of oocyte developmental competence. *Molecular Human Reproduction* [online]. **14**(12), 673–678. ISSN 13609947. Dostupné z: doi:10.1093/molehr/gan064

LI, Yin, Lalith PERERA, Laurel A. COONS, Katherine A. BURNS, J. TYLER RAMSEY, Katherine E. PELCH, René HOUTMAN, Rinie VAN BEUNINGEN, Christina T. TENG a Kenneth S. KORACH, 2018. Differential in vitro biological action, coregulator interactions, and molecular dynamic analysis of bisphenol A (BPA), BPAF, and BPS ligand–ER α complexes. *Environmental Health Perspectives* [online]. **126**(1), 1–16. ISSN 15529924. Dostupné z: doi:10.1289/EHP2505

LIAO, Chunyang a Kurunthachalam KANNAN, 2014. A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from nine cities in China. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* [online]. **31**(2), 319–329. ISSN 19440049. Dostupné z: doi:10.1080/19440049.2013.868611

LIAO, Chunyang, Fang LIU, Husam ALOMIRAH, Vu Duc LOI, Mustafa Ali MOHD, Hyo Bang MOON, Haruhiko NAKATA a Kurunthachalam KANNAN, 2012a. Bisphenol S in urine from the United States and seven Asian countries: Occurrence and human exposures. *Environmental Science and Technology* [online]. **46**(12), 6860–6866. ISSN 0013936X. Dostupné z: doi:10.1021/es301334j

LIAO, Chunyang, Fang LIU, Husam ALOMIRAH, Vu Duc LOI, Mustafa Ali MOHD, Hyo Bang MOON, Haruhiko NAKATA a Kurunthachalam KANNAN, 2012b. Bisphenol S in urine from the United States and seven Asian countries: Occurrence and human exposures. *Environmental Science and Technology* [online]. **46**(12), 6860–6866. ISSN 0013936X. Dostupné z: doi:10.1021/es301334j

LIAO, Chunyang, Fang LIU, Ying GUO, Hyo-bang MOON, Haruhiko NAKATA, Qian WU a Kurunthachalam KANNAN, 2012c. BPS and other BPs in dust es302004w.pdf. *Environmental Science and Pollution Research*. **46**, 9138–9145.

LIAO, Chunyang, Fang LIU, Ying GUO, Hyo Bang MOON, Haruhiko NAKATA, Qian WU a Kurunthachalam KANNAN, 2012d. Occurrence of eight bisphenol analogues in indoor dust from the United States and several Asian countries: implications for human exposure. *Environmental science & technology* [online]. **46**(16), 9138–9145. ISSN 15205851. Dostupné z: doi:10.1021/es302004w

LIU, Jiaying, Jingguang LI, Yongning WU, Yunfeng ZHAO, Fengji LUO, Shuming LI, Lin YANG, Elham K. MOEZ, Irina DINU a Jonathan W. MARTIN, 2017. Bisphenol A Metabolites and Bisphenol S in Paired Maternal and Cord Serum. *Environmental Science and Technology* [online]. **51**(4), 2456–2463. ISSN 15205851. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.6b05718

LIU, Xue Xia, Zhi Xin WANG a Fu Jun LIU, 2021. Chronic exposure of BPA impairs male germ cell proliferation and induces lower sperm quality in male mice. *Chemosphere* [online]. **262**, 127880. ISSN 18791298. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2020.127880

LOVRIEN, Rex a Daumantas MATULIS, 2005. Assays for Total Protein. *Current Protocols in Microbiology*. 1–14.

LUENSE, Lacey J., Xiaoshi WANG, Samantha B. SCHON, Angela H. WELLER, Enrique LIN SHIAO, Jessica M. BRYANT, Marisa S. BARTOLOMEI, Christos COUTIFARIS, Benjamin A. GARCIA a Shelley L. BERGER, 2016. Comprehensive analysis of histone post-translational modifications in mouse and human male germ cells. *Epigenetics and Chromatin* [online]. **9**(1), 1–15. ISSN 17568935. Dostupné z: doi:10.1186/s13072-016-0072-6

MAĆCZAK, Aneta, Monika CYRKLER, Bożena BUKOWSKA a Jaromir MICHAŁOWICZ, 2017. Bisphenol A, bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF induce different oxidative stress and damage in human red blood cells (in vitro study). *Toxicology in Vitro* [online]. **41**, 143–149. ISSN 18793177. Dostupné z: doi:10.1016/j.tiv.2017.02.018

MANIKKAM, Mohan, Rebecca TRACEY, Carlos GUERRERO-BOSAGNA a Michael K. SKINNER, 2013. Plastics Derived Endocrine Disruptors (BPA, DEHP and DBP) Induce Epigenetic Transgenerational Inheritance of Obesity, Reproductive Disease and Sperm Epimutations. *PLoS ONE* [online]. **8**(1). ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0055387

MARIAPPA, Daniel, Ravindranath H. ALADAKATTI, Santosh K. DASARI, Arun SREEKUMAR, Michael WOLKOWICZ, Frans VAN DER HOORN a Polani B. SESHAGIRI, 2010. Inhibition of tyrosine phosphorylation of sperm flagellar proteins, outer dense fiber protein-2 and tektin-2, is associated with impaired motility during capacitation of hamster spermatozoa. *Molecular Reproduction and Development* [online]. **77**(2), 182–193. ISSN 1040452X. Dostupné z: doi:10.1002/mrd.21131

MATALOVÁ, Petra, Karel URBÁNEK a Pavel ANZENBACHER, 2016. Specific features of pharmacokinetics in children. *Drug Metabolism Reviews* [online]. **48**(1), 70–79. ISSN 10979883. Dostupné z: doi:10.3109/03602532.2015.1135941

MATHEW, Manjumol, S. SREEDHANYA, P. MANOJ, C. T. ARAVINDAKUMAR a Usha K. ARAVIND, 2014. Exploring the interaction of bisphenol-S with serum albumins: A better or worse alternative for bisphenol A? *Journal of Physical Chemistry B* [online]. **118**(14), 3832–3843. ISSN 15205207. Dostupné z: doi:10.1021/jp500404u

MATZUK, Martin M., Kathleen H. BURNS, Maria M. VIVEIROS a John J. EPPIG, 2002. Intercellular communication in the mammalian ovary: Oocytes carry the conversation. *Science* [online]. **296**(5576), 2178–2180. ISSN 00368075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1071965

MCKEE, Bruce D. a Mary Ann HANDEL, 1993. Sex chromosomes, recombination, and chromatin conformation. *Chromosoma* [online]. **102**(2), 71–80. ISSN 00095915. Dostupné z: doi:10.1007/BF00356023

MCLAREN, Anne, 2003. Primordial germ cells in the mouse. *Developmental Biology* [online]. **262**(1), 1–15. ISSN 00121606. Dostupné z: doi:10.1016/S0012-1606(03)00214-8

MEHLMANN, L. M., M. TERASAKI, L. A. JAFFE a D. KLINE, 1995. Reorganization of the Endoplasmic Reticulum during Meiotic Maturation of the Mouse Oocyte. *Developmental Biology*. **170**(2), 607–615.

MENDONCA, K., R. HAUSER, A. M. CALAFAT, T. E. ARBUCKLE a S. M. DUTY, 2014. Bisphenol A concentrations in maternal breast milk and infant urine. *International Archives of Occupational and Environmental Health* [online]. **87**(1), 13–20. ISSN 03400131. Dostupné z: doi:10.1007/s00420-012-0834-9

MESNAGE, Robin, Alexia PHEDONOS, Matthew ARNO, Sucharitha BALU, J. Christopher CORTON a Michael N. ANTONIOU, 2017. Transcriptome profiling reveals bisphenol a alternatives activate estrogen receptor alpha in human breast cancer cells. *Toxicological Sciences* [online]. **158**(2), 431–443. ISSN 10960929. Dostupné z: doi:10.1093/toxsci/kfx101

MIDDELKAMP, Sjors, Helena T.A. VAN TOL, Diana C.J. SPIERINGS, Sander BOYMANS, Victor GURYEV, Bernard A.J. ROELEN, Peter M. LANSDORP, Edwin CUPPEN a Ewart W. KUIJK, 2019. Sperm DNA damage causes genomic instability in early embryonic development. *bioRxiv* [online]. (April), 1–13. Dostupné z: doi:10.1101/681296

MILLER, Walter L. a Richard J. AUCHUS, 2011. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocrine Reviews* [online]. **32**(1), 81–151. ISSN 0163769X. Dostupné z: doi:10.1210/er.2010-0013

MITA, Payal, Barry T. HINTON a Jannette M. DUFOUR, 2011. The blood-testis

and blood-epididymis barriers are more than just their tight junctions. *Biology of Reproduction* [online]. **84**(5), 851–858. ISSN 00063363. Dostupné z: doi:10.1095/biolreprod.110.087452

MOK-LIN, E., S. EHRLICH, P. L. WILLIAMS, J. PETROZZA, D. L. WRIGHT, A. M. CALAFAT, X. YE a R. HAUSER, 2010. Urinary bisphenol A concentrations and ovarian response among women undergoing IVF. *International Journal of Andrology* [online]. **33**(2), 385–393. ISSN 01056263. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2605.2009.01014.x

MOLINA-MOLINA, José Manuel, Esperanza AMAYA, Marina GRIMALDI, José María SÁENZ, Macarena REAL, Mariana F. FERNÁNDEZ, Patrick BALAGUER a Nicolás OLEA, 2013. In vitro study on the agonistic and antagonistic activities of bisphenol-S and other bisphenol-A congeners and derivatives via nuclear receptors. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. **272**(1), 127–136. ISSN 0041008X. Dostupné z: doi:10.1016/j.taap.2013.05.015

MORGAN, Hugh D., Fátima SANTOS, Kelly GREEN, Wendy DEAN a Wolf REIK, 2005. Epigenetic reprogramming in mammals. *Human Molecular Genetics* [online]. **14**(SPEC. ISS. 1), 47–58. ISSN 09646906. Dostupné z: doi:10.1093/hmg/ddi114

MOTLIK, J., N. CROZET a J. FULKA, 1984. Meiotic competence in vitro of pig oocytes isolated from early antral follicles. *Journal of Reproduction and Fertility* [online]. **72**(2), 323–328. ISSN 00224251. Dostupné z: doi:10.1530/jrf.0.0720323

MOTLÍK, Jan a Josef FULKA, 1976. Breakdown of the germinal vesicle in pig oocytes in vivo and in vitro. *Journal of Experimental Zoology* [online]. **198**(2), 155–162. ISSN 1097010X. Dostupné z: doi:10.1002/jez.1401980205

MRUK, Dolores D. a C. Yan CHENG, 2015. The mammalian blood-testis barrier: Its biology and regulation. *Endocrine Reviews* [online]. **36**(5), 564–591. ISSN 0163769X. Dostupné z: doi:10.1210/er.2014-1101

NAKAMURA, Noriko, Antonio MIRANDA-VIZUETE, Kiyoshi MIKI, Chisato MORI a Edward M. EDDY, 2008. Cleavage of disulfide bonds in mouse spermatogenic cell-specific type 1 hexokinase isozyme is associated with increased hexokinase activity and initiation of sperm motility. *Biology of Reproduction* [online]. **79**(3), 537–545. ISSN 00063363. Dostupné z: doi:10.1095/biolreprod.108.067561

NAKATA, Hiroki, Tomohiko WAKAYAMA, Yoshimi TAKAI a Shoichi ISEKI, 2015. Quantitative Analysis of the Cellular Composition in Seminiferous Tubules in Normal and Genetically Modified Infertile Mice. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* [online]. **63**(2), 99–113. ISSN 15515044. Dostupné z: doi:10.1369/0022155414562045

NAZ, Rajesh K. a Preeti B. RAJESH, 2004. Role of tyrosine phosphorylation in sperm capacitation/acrosome reaction. *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. **2**, 1–12. ISSN 14777827. Dostupné z: doi:10.1186/1477-7827-2-75

NDAW, Sophie, Aurélie REMY, Danièle JARGOT a Alain ROBERT, 2016. Occupational exposure of cashiers to Bisphenol A via thermal paper: urinary biomonitoring study. *International Archives of Occupational and Environmental Health* [online]. **89**(6), 935–946. ISSN 03400131. Dostupné z: doi:10.1007/s00420-016-1132-8

NEVORAL, Jan, Jiřina HAVRÁNKOVÁ, Yaroslav KOLINKO, Šárka PROKEŠOVÁ, Tereza FENCLOVÁ, Ladan MONSEF, Tereza ŽALMANOVÁ, Jaroslav PETR a Milena KRÁLÍČKOVÁ, 2021. Exposure to alternative bisphenols BPS and BPF through breast milk: Noxious heritage effect during nursing associated with idiopathic infertility. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. **413**(September 2020). ISSN 10960333. Dostupné z: doi:10.1016/j.taap.2021.115409

NEVORAL, Jan, Yaroslav KOLINKO, Jiří MORAVEC, Tereza ŽALMANOVÁ, Kristýna HOŠKOVÁ, Šárka PROKEŠOVÁ, Pavel KLEIN, Kamar GHAIBOUR, Petr HOŠEK, Miriama ŠTIAVNICKÁ, Hedvika ŘIMNÁČOVÁ, Zbyněk TONAR, Jaroslav PETR a Milena KRÁLÍČKOVÁ, 2018a. Long-term exposure to very low doses of bisphenol S affects female reproduction. *Reproduction* [online]. **156**(1), 47–57. ISSN 17417899. Dostupné z: doi:10.1530/REP-18-0092

NEVORAL, Jan, Yaroslav KOLINKO, Jiří MORAVEC, Tereza ŽALMANOVÁ, Kristýna HOŠKOVÁ, Šárka PROKEŠOVÁ, Pavel KLEIN, Kamar GHAIBOUR, Petr HOŠEK, Miriama ŠTIAVNICKÁ, Hedvika ŘIMNÁČOVÁ, Zbyněk TONAR, Jaroslav PETR a Milena KRÁLÍČKOVÁ, 2018b. Long-term exposure to very low doses of bisphenol S affects female reproduction. *Reproduction* [online]. **156**(1), 47–57. ISSN 17417899. Dostupné z: doi:10.1530/REP-18-0092

NEWMAN, H., S. CATT, B. VINING, B. VOLLENHOVEN a F. HORTA, 2022. DNA repair and response to sperm DNA damage in oocytes and embryos, and the potential

consequences in ART: a systematic review. *Molecular human reproduction* [online]. **28**(1), 1–14. ISSN 14602407. Dostupné z: doi:10.1093/molehr/gaab071

NIU, Wanbao a Allan C. SPRADLING, 2020. Two distinct pathways of pregranulosa cell differentiation support follicle formation in the mouse ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **117**(33), 20015–20026. ISSN 10916490. Dostupné z: doi:10.1073/PNAS.2005570117

NIU, Yumin, Bin WANG, Yunfeng ZHAO, Jing ZHANG a Bing SHAO, 2017. Highly Sensitive and High-Throughput Method for the Analysis of Bisphenol Analogues and Their Halogenated Derivatives in Breast Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **65**(48), 10452–10463. ISSN 15205118. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.7b04394

O'FLAHERTY, C., E. DE LAMIRANDE a C. GAGNON, 2004. Phosphorylation of the Arginine-X-X-(Serine/Threonine) motif in human sperm proteins during capacitation: Modulation and protein kinase A dependency. *Molecular Human Reproduction* [online]. **10**(5), 355–363. ISSN 13609947. Dostupné z: doi:10.1093/molehr/gah046

OAKBERG, E. F., 1968. Relationship between stage of follicular development and RNA synthesis in the mouse oocyte. *Mutation Research*. **6**, 155–165.

OHTO, Umeharu, Hanako ISHIDA, Elena KRAYUKHINA, Susumu UCHIYAMA, Naokazu INOUE a Toshiyuki SHIMIZU, 2016. Structure of IZUMO1-JUNO reveals sperm-oocyte recognition during mammalian fertilization. *Nature* [online]. **534**(7608), 566–569. ISSN 14764687. Dostupné z: doi:10.1038/nature18596

OLDS-CLARKE, Patricia, Stephen H. PILDER, Pablo E. VISCONTI, Stuart B. MOSS, Joanne M. ORTH a Gregory S. KOPF, 1996. Sperm from mice carrying two t haplotypes do not possess a tyrosine phosphorylated form of hexokinase. *Molecular Reproduction and Development* [online]. **43**(1), 94–104. ISSN 1040452X. Dostupné z: doi:10.1002/(SICI)1098-2795(199601)43:1<94::AID-MRD12>3.0.CO;2-4

OLIVA, Rafael, 2006. Protamines and male infertility. *Human Reproduction Update* [online]. **12**(4), 417–435. ISSN 13554786. Dostupné z: doi:10.1093/humupd/dml009

OLIVA, Rafael a Josep LUÍS BALLESC, 2012. Altered histone retention and epigenetic modifications in the sperm of infertile men. *Asian Journal of Andrology* [online].

14(2), 239–240. ISSN 1008682X. Dostupné z: doi:10.1038/aja.2011.159

OLSEN, Ann Karin, Birgitte LINDEMAN, Richard WIGER, Nur DUALE a Gunnar BRUNBORG, 2005. How do male germ cells handle DNA damage? *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. **207**(2 SUPPL.), 521–531. ISSN 10960333. Dostupné z: doi:10.1016/j.taap.2005.01.060

OLSON, Bradley J.S.C., 2016. Assays for determination of protein concentration. *Current Protocols in Pharmacology* [online]. **2016**(June), A.3A.1-A.3A.32. ISSN 19348290. Dostupné z: doi:10.1002/cpph.3

OZKEMAHLI, Gizem, Aylin BALCI OZYURT, Pinar ERKEKOGLU, Naciye Dilara ZEYBEK, Nilgun YERSAL a Belma KOCER-GUMUSEL, 2022. The effects of prenatal and lactational bisphenol A and/or di(2-ethylhexyl) phthalate exposure on female reproductive system. *Toxicology Mechanisms and Methods* [online]. **0**(0), 1–9. ISSN 1537-6516. Dostupné z: doi:10.1080/15376516.2022.2057265

PARADOWSKA, Agnieszka S., David MILLER, Andrej Nikolai SPIESS, Markus VIEWEG, Martina CERNA, Katerina DVORAKOVA-HORTOVA, Marek BARTKUHN, Hans Christian SCHUPPE, Wolfgang WEIDNER a Klaus STEGER, 2012. Genome wide identification of promoter binding sites for H4K12ac in human sperm and its relevance for early embryonic development. *Epigenetics* [online]. **7**(9), 1057–1070. ISSN 15592308. Dostupné z: doi:10.4161/epi.21556

PEARL, R. a W. F. SCHOPPE, 1921. Studies on the physiology of reproduction in the domestic fowl. XVIII. Further observations on the anatomical basis of fecundity. *Journal of experimental zoology*. **34**(1), 100–118.

PEKNICOVÁ, Jana, Vendula KYSELOVÁ, Michael BOUBELÍK a Dana BUCKIOVÁ, 2002. Effect of an endocrine disruptor on mammalian fertility. Application of monoclonal antibodies against sperm proteins as markers for testing sperm damage. *American Journal of Reproductive Immunology* [online]. **47**(5), 311–318. ISSN 87558920. Dostupné z: doi:10.1034/j.1600-0897.2002.01112.x

PHILIPS, Elise M., Vincent W.V. JADDOE, Alexandros G. ASIMAKOPOULOS, Kurunthachalam KANNAN, Eric A.P. STEEGERS, Susana SANTOS a Leonardo TRASANDE, 2018. Bisphenol and phthalate concentrations and its determinants among

pregnant women in a population-based cohort in the Netherlands, 2004–5. *Environmental Research* [online]. **161**(September 2017), 562–572. ISSN 10960953. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2017.11.051

PICTON, Helen, David BRIGGS a Roger GOSDEN, 1998. The molecular basis of oocyte growth and development. *Molecular and Cellular Endocrinology* [online]. **145**(1–2), 27–37. ISSN 03037207. Dostupné z: doi:10.1016/S0303-7207(98)00166-X

PITTOGGI, C., L. RENZI, G. ZACCAGNINI, D. CIMINI, F. DEGRASSI, R. GIORDANO, A. R. MAGNANO, R. LORENZINI, P. LAVIA a C. SPADAFORA, 1999. A fraction of mouse sperm chromatin is organized in nucleosomal hypersensitive domains enriched in retroposon DNA C. *Journal of Cell Science* [online]. **112**(20), 3537 – 3548. ISSN 00029890. Dostupné z: doi:10.2307/2301280

POCAR, Paola, Nadia FIANDANESE, Anna BERRINI, Camillo SECCHI a Vitaliano BORROMEO, 2017a. Maternal exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) promotes the transgenerational inheritance of adult-onset reproductive dysfunctions through the female germline in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. **322**, 113–121. ISSN 10960333. Dostupné z: doi:10.1016/j.taap.2017.03.008

POCAR, Paola, Nadia FIANDANESE, Anna BERRINI, Camillo SECCHI a Vitaliano BORROMEO, 2017b. Maternal exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) promotes the transgenerational inheritance of adult-onset reproductive dysfunctions through the female germline in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. **322**, 113–121. ISSN 10960333. Dostupné z: doi:10.1016/j.taap.2017.03.008

POCAR, Paola, Nadia FIANDANESE, Camillo SECCHI, Anna BERRINI, Bernd FISCHER, Juliane Susanne SCHMIDT, Kristina SCHAEDLICH, Stewart M. RHIND, Zulin ZHANG a Vitaliano BORROMEO, 2012. Effects of polychlorinated biphenyls in CD-1 mice: Reproductive toxicity and intergenerational transmission. *Toxicological Sciences* [online]. **126**(1), 213–226. ISSN 10960929. Dostupné z: doi:10.1093/toxsci/kfr327

POINTIS, Georges a Dominique SEGRETAIN, 2005. Role of connexin-based gap junction channels in testis. *Trends in Endocrinology and Metabolism* [online]. **16**(7), 300–306. ISSN 10432760. Dostupné z: doi:10.1016/j.tem.2005.07.001

PROKEŠOVÁ, Šárka, Kamar GHAIBOUR, František LIŠKA, Pavel KLEIN, Tereza

FENCLOVÁ, Miriama ŠTIAVNICKÁ, Petr HOŠEK, Tereza ŽALMANOVÁ, Kristýna HOŠKOVÁ, Hedvika ŘIMNÁČOVÁ, Jaroslav PETR, Milena KRÁLÍČKOVÁ a Jan NEVORAL, 2020. Acute low-dose bisphenol S exposure affects mouse oocyte quality. *Reproductive Toxicology* [online]. **93**(September 2019), 19–27. ISSN 08906238. Dostupné z: doi:10.1016/j.reprotox.2019.12.005

QIU, Wenhui, Yali ZHAO, Ming YANG, Matthew FARAJZADEH, Chenyuan PAN a Nancy L. WAYNE, 2016. Actions of bisphenol A and bisphenol S on the reproductive neuroendocrine system during early development in zebrafish. *Endocrinology* [online]. **157**(2), 636–647. ISSN 19457170. Dostupné z: doi:10.1210/en.2015-1785

RAHMAN, Md Saidur, Woo Sung KWON, Polash Chandra KARMAKAR, Sung Jae YOON, Buom Yong RYU a Myung Geol PANG, 2017. Gestational exposure to bisphenol A affects the function and proteome profile of F1 spermatozoa in adult mice. *Environmental Health Perspectives* [online]. **125**(2), 238–245. ISSN 15529924. Dostupné z: doi:10.1289/EHP378

RAHMAN, Md Saidur, Woo Sung KWON, June Sub LEE, Sung Jae YOON, Buom Yong RYU a Myung Geol PANG, 2015. Bisphenol-A Affects Male Fertility via Fertility-related Proteins in Spermatozoa. *Scientific Reports* [online]. **5**(1), 1–9. ISSN 20452322. Dostupné z: doi:10.1038/srep09169

RAJABI, H., H. MOHSENI-KOUCHESFEHANI, T. ESLAMI-ARSHAGHI a M. SALEHI, 2018. Sperm DNA fragmentation affects epigenetic feature in human male pronucleus. *Andrologia* [online]. **50**(1), 1–7. ISSN 14390272. Dostupné z: doi:10.1111/and.12800

RATTAN, Saniya, Hannah K. BEERS, Athilakshmi KANNAN, Anujaianthi RAMAKRISHNAN, E. BREHM, Indrani BAGCHI, Joseph M.K. IRUDAYARAJ a Jodi A. FLAWS, 2019. Prenatal and ancestral exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate alters gene expression and DNA methylation in mouse ovaries. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. **379**(June), 114629. ISSN 10960333. Dostupné z: doi:10.1016/j.taap.2019.114629

RATTAN, Saniya a Jodi A. FLAWS, 2019. The epigenetic impacts of endocrine disruptors on female reproduction across generations. *Biology of Reproduction* [online]. **101**(3), 635–644. ISSN 15297268. Dostupné z: doi:10.1093/biolre/ioz081

RIBEIRO, Edna, Carina LADEIRA a Susana VIEGAS, 2017. Occupational exposure to Bisphenol A (BPA): A reality that still needs to be unveiled. *Toxics* [online]. **5**(3), 1–16. ISSN 23056304. Dostupné z: doi:10.3390/toxics5030022

RICHARDSON, Brian E. a Ruth LEHMANN, 2010. Mechanisms guiding primordial germ cell migration: Strategies from different organisms. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. **11**(1), 37–49. ISSN 14710072. Dostupné z: doi:10.1038/nrm2815

RICHTER, Christoph, 1992. Reactive oxygen and DNA damage in mitochondria. *Mutation Research DNAGing* [online]. **275**(3–6), 249–255. ISSN 09218734. Dostupné z: doi:10.1016/0921-8734(92)90029-O

ŘIMNÁČOVÁ, Hedvika, Miriam ŠTIAVNICKÁ, Jiří MORAVEC, Marouane CHEMEK, Yaroslav KOLINKO, Olga GARCÍA-ÁLVAREZ, Peter R. MOUTON, Azalia Mariel Carranza TREJO, Tereza FENCLOVÁ, Nikola ERETOVÁ, Petr HOŠEK, Pavel KLEIN, Milena KRÁLÍČKOVÁ, Jaroslav PETR a Jan NEVORAL, 2020. Low doses of Bisphenol S affect post-translational modifications of sperm proteins in male mice. *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. **18**(1), 56. ISSN 1477-7827. Dostupné z: doi:10.1186/s12958-020-00596-x

RITAGLIATI, Carla, Guillermina M. LUQUE, Cintia STIVAL, Carolina BARO GRAF, Mariano G. BUFFONE a Dario KRAPF, 2018. Lysine acetylation modulates mouse sperm capacitation. *Scientific Reports* [online]. **8**(1), 1–14. ISSN 20452322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-31557-5

ROCHESTER, Johanna R. a Ashley L. BOLDEN, 2015. Bisphenol S and F: A systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol a substitutes. *Environmental Health Perspectives* [online]. **123**(7), 643–650. ISSN 15529924. Dostupné z: doi:10.1289/ehp.1408989

ROSENMAI, Anna Kjerstine, Marianne DYBDAHL, Mikael PEDERSEN, Barbara Medea Alice VAN VUGT-LUSSENBURG, Eva Bay WEDEBYE, Camilla TAXVIG a Anne Marie VINGGAARD, 2014. Are structural analogues to bisphenol a safe alternatives? *Toxicological Sciences* [online]. **139**(1), 35–47. ISSN 10960929. Dostupné z: doi:10.1093/toxsci/kfu030

SAITOU, Mitinori a Masashi YAMAJI, 2012. Primordial germ cells in mice. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [online]. **4**(11), 1–20. ISSN 19430264. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a008375

SALIAN, Smita, Tanvi DOSHI a Geeta VANAGE, 2011. Perinatal exposure of rats to Bisphenol A affects fertility of male offspring-An overview. *Reproductive Toxicology* [online]. **31**(3), 359–362. ISSN 08906238. Dostupné z: doi:10.1016/j.reprotox.2010.10.008

SAMANTA, Luna, Nirlipta SWAIN, Ahmet AYAZ, Vijay VENUGOPAL a Ashok AGARWAL, 2016. Post-Translational Modifications in sperm Proteome: The Chemistry of Proteome diversifications in the Pathophysiology of male factor infertility. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* [online]. **1860**(7), 1450–1465. ISSN 03044165. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbagen.2016.04.001

SATHANANTHAN, A. Henry, Kamala SELVARAJ a Alan TROUNSON, 2000. Fine structure of human oogonia in the foetal ovary. *Molecular and Cellular Endocrinology* [online]. **161**(1–2), 3–8. ISSN 03037207. Dostupné z: doi:10.1016/S0303-7207(99)00216-6

SCHON, Samantha B., Lacey J. LUENSE, Xiaoshi WANG, Marisa S. BARTOLOMEI, Christos COUTIFARIS, Benjamin A. GARCIA a Shelley L. BERGER, 2019. Histone modification signatures in human sperm distinguish clinical abnormalities. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. **36**(2), 267–275. ISSN 15737330. Dostupné z: doi:10.1007/s10815-018-1354-7

SCHULTZ, Richard M., Gail E. LETOURNEAU a Paul M. WASSARMAN, 1979. Program of early development in the mammal: Changes in patterns and absolute rates of tubulin and total protein synthesis during oogenesis and early embryogenesis in the mouse. *Developmental Biology* [online]. **68**(2), 341–359. ISSN 00121606. Dostupné z: doi:10.1016/0012-1606(79)90209-4

SEDÓ, Cristian Alvarez, Melina BILINSKI, Daniela LORENZI, Heydy URIONDO, Felicitas NOBLÍA, Valeria LONGOBUCCO, Estefanía Ventimiglia LAGAR a Florencia NODAR, 2017. Effect of sperm DNA fragmentation on embryo development: Clinical and biological aspects. *Jornal Brasileiro de Reproducao Assistida* [online]. **21**(4), 343–350. ISSN 15180557. Dostupné z: doi:10.5935/1518-0557.20170061

SHANG, Enyuan, Xiangyuan WANG, Duancheng WEN, David A. GREENBERG

a Debra J. WOLGEMUTH, 2009. Double bromodomain-containing gene Brd2 is essential for embryonic development in Mouse. *Developmental Dynamics* [online]. **238**(4), 908–917. ISSN 10588388. Dostupné z: doi:10.1002/dvdy.21911

SHARMA, Arishya, Kamini SINGH a Alexandru ALMASAN, 2012. Histone H2AX phosphorylation: A marker for DNA damage. *Methods in Molecular Biology* [online]. **920**(May), 613–626. ISSN 10643745. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-61779-998-3_40

SHARMA, Shikha, Shahzad AHMAD, Mohd Amir AFJAL, Haroon HABIB, Suhel PARVEZ a Sheikh RAISUDDIN, 2019. Dichotomy of bisphenol A-induced expression of peroxisome proliferator-activated receptors in hepatic and testicular tissues in mice. *Chemosphere* [online]. **236**, 124264. ISSN 18791298. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2019.06.234

SHI, Mingxin, Nikola SEKULOVSKI, James A. MACLEAN a Kanako HAYASHI, 2017. Effects of bisphenol A analogues on reproductive functions in mice. *Reproductive Toxicology* [online]. **73**, 280–291. ISSN 18731708. Dostupné z: doi:10.1016/j.reprotox.2017.06.134

SHI, Mingxin, Nikola SEKULOVSKI, James A. MACLEAN, Allison WHORTON a Kanako HAYASHI, 2019a. Prenatal Exposure to Bisphenol A Analogues on Female Reproductive Functions in Mice. *Toxicological Sciences* [online]. **168**(2), 561–571. ISSN 10960929. Dostupné z: doi:10.1093/toxsci/kfz014

SHI, Mingxin, Allison E WHORTON, Nikola SEKULOVSKI, James A MACLEAN a Kanako HAYASHI, 2019b. Prenatal Exposure to Bisphenol A, E, and S Induces Transgenerational Effects on Male Reproductive Functions in Mice. *Toxicological Sciences* [online]. **172**(2), 303–315. ISSN 1096-6080. Dostupné z: doi:10.1093/toxsci/kfz207

SHIRAKATA, Yoshiki, Yuuki HIRADATE, Hiroki INOUE, Eimei SATO a Kentaro TANEMURA, 2014. Histone H4 Modification During Mouse Spermatogenesis. *Journal of Reproduction and Development*.

SIKLENKA, Keith, Serap ERKEK, Maren GODMANN, Romain LAMBROT, Serge MCGRAW, Christine LAFLEUR, Tamara COHEN, Jianguo XIA, Matthew SUDERMAN, Michael HALLETT, Jacquetta TRASLER, Antoine H.F.M. PETERS a Sarah KIMMINS, 2015. Disruption of histone methylation in developing sperm impairs offspring

health transgenerationally. *Science* [online]. **350**(6261). ISSN 10959203. Dostupné z: doi:10.1126/science.aab2006

SIMEONI, Umberto, Jean Baptiste ARMENGAUD, Benazir SIDDEEK a Jean François TOLSA, 2018. Perinatal Origins of Adult Disease. *Neonatology* [online]. **113**(4), 393–399. ISSN 16617819. Dostupné z: doi:10.1159/000487618

SIMERLY, Calvin, Marion MANIL-SÉGALEN, Carlos CASTRO, Carrie HARTNETT, Dong KONG, Marie Hélène VERLHAC, Jadranka LONCAREK a Gerald SCHATTEN, 2018. Separation and Loss of Centrioles From Primordial Germ Cells To Mature Oocytes In The Mouse. *Scientific Reports* [online]. **8**(1), 1–17. ISSN 20452322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-31222-x

SIMONEAU, C., S. VALZACCHI, V. MORKUNAS a L. VAN DEN EEDE, 2011a. Comparison of migration from polyethersulphone and polycarbonate baby bottles. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* [online]. **28**(12), 1763–1768. ISSN 19440049. Dostupné z: doi:10.1080/19440049.2011.604644

SIMONEAU, C., S. VALZACCHI, V. MORKUNAS a L. VAN DEN EEDE, 2011b. Comparison of migration from polyethersulphone and polycarbonate baby bottles. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* [online]. **28**(12), 1763–1768. ISSN 19440049. Dostupné z: doi:10.1080/19440049.2011.604644

SIMS, Robert J., Kenichi NISHIOKA a Danny REINBERG, 2003. Histone lysine methylation: A signature for chromatin function. *Trends in Genetics* [online]. **19**(11), 629–639. ISSN 01689525. Dostupné z: doi:10.1016/j.tig.2003.09.007

SIRACUSA, Jacob Steven, Lei YIN, Emily MEASEL, Shenuxan LIANG a Xiaozhong YU, 2018. *Effects of bisphenol A and its analogs on reproductive health: A mini review* [online]. 1. srpen 2018. B.m.: Elsevier Inc. ISSN 18731708. Dostupné z: doi:10.1016/j.reprotox.2018.06.005

SKLEDAR, Darja Gramec, Jan SCHMIDT, Anja FIC, Ivana KLOPČIČ, Jurij TRONTELJ, Marija Sollner DOLENC, Moshe FINEL a Lucija Peterlin MAŠIČ, 2016. Influence of metabolism on endocrine activities of bisphenol S. *Chemosphere* [online]. **157**,

152–159. ISSN 18791298. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2016.05.027

SMARR, Melissa M., Kurunthachalam KANNAN, Liping SUN, Masato HONDA, Wei WANG, Rajendiran KARTHIKRAJ, Zhen CHEN, Jennifer WECK a Germaine M. BUCK LOUIS, 2018. Preconception seminal plasma concentrations of endocrine disrupting chemicals in relation to semen quality parameters among male partners planning for pregnancy. *Environmental Research* [online]. **167**(July), 78–86. ISSN 10960953. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2018.07.004

SOYAL, S. M., A. AMLEH a J. DEAN, 2000. FIG α , a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation. *Development* [online]. **127**(21), 4645–4654. ISSN 09501991. Dostupné z: doi:10.1242/dev.127.21.4645

STEGER, Klaus, Frank TETENS a Martin BERGMANN, 1999. Expression of connexin 43 in human testis. *Histochemistry and Cell Biology* [online]. **112**(3), 215–220. ISSN 09486143. Dostupné z: doi:10.1007/s004180050409

ŠTIAVNICKÁ, Miriama, Olga GARCÍA-ÁLVAREZ, Zděnka ULČOVÁ-GALLOVÁ, Peter SUTOVSKY, Laura ABRIL-PARREÑO, Martina DOLEJŠOVÁ, Hedvika ŘIMNÁČOVÁ, Jiří MORAVEC, Petr HOŠEK, Petr LOŠAN, Lukáš GOLD, Tereza FENCLOVÁ, Milena KRÁLÍČKOVÁ a Jan NEVORAL, 2019. H3K4me2 accompanies chromatin immaturity in human spermatozoa: an epigenetic marker for sperm quality assessment. *Systems Biology in Reproductive Medicine* [online]. **66**(1), 1–9. ISSN 1939-6368. Dostupné z: doi:10.1080/19396368.2019.1666435

STRINGER, Jessica M., Amy WINSHIP, Nadeen ZERAFI, Matthew WAKEFIELD a Karla HUTT, 2020. Oocytes can efficiently repair DNA double-strand breaks to restore genetic integrity and protect offspring health. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **117**(21), 11513–11522. ISSN 10916490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.2001124117

SULLIVAN, Robert a Roger MIEUSSET, 2016. The human epididymis: Its function in sperm maturation. *Human Reproduction Update* [online]. **22**(5), 574–587. ISSN 14602369. Dostupné z: doi:10.1093/humupd/dmw015

SUSIARJO, Martha, Frances XIN, Amita BANSAL, Martha STEFANIAK, Changhong LI, Rebecca A. SIMMONS a Marisa S. BARTOLOMEI, 2015. Bisphenol A

exposure disrupts metabolic health across multiple generations in the mouse. *Endocrinology* [online]. **156**(6), 2049–2058. ISSN 19457170. Dostupné z: doi:10.1210/en.2014-2027

SUZUKI, Susumu, Yoshinori HINOKIO, Koga KOMATU, Masataka OHTOMO, Masatoshi ONODA, Satoshi HIRAI, Masashi HIRAI, Aki HIRAI, Masaki CHIBA, Shigeru KASUGA, Hiroaki AKAI a Takayoshi TOYOTA, 1999. Oxidative damage to mitochondrial DNA and its relationship to diabetic complications. *Diabetes Research and Clinical Practice*. **45**, 161–168.

SZKODZIAK, Filip, Jarosław KRZYŻANOWSKI a Piotr SZKODZIAK, 2020. Psychological aspects of infertility. A systematic review. *Journal of International Medical Research* [online]. **48**(6). ISSN 14732300. Dostupné z: doi:10.1177/0300060520932403

TAMURA, Aileen N., Thomas T.F. HUANG a Yusuke MARIKAWA, 2013. Impact of vitrification on the meiotic spindle and components of the microtubule-organizing center in mouse mature oocytes. *Biology of Reproduction* [online]. **89**(5), 1–10. ISSN 15297268. Dostupné z: doi:10.1095/biolreprod.113.108167

TELFER, Evelyn E. a Marie MCLAUGHLIN, 2011. In vitro development of ovarian follicles. *Seminars in Reproductive Medicine* [online]. **29**(1), 15–23. ISSN 15268004. Dostupné z: doi:10.1055/s-0030-1268700

THAYER, Kristina A, Kyla W TAYLOR, Stavros GARANTZIOTIS, Shepherd H SCHURMAN, Grace E KISSLING, Dawn HUNT, Brenda HERBERT, Rebecca CHURCH, Rachael JANKOWICH, Mona I CHURCHWELL, Richard C SCHERI, Linda S BIRNBAUM a John R BUCHER, 2016. (BPSIP) in Urine and Blood of Cashiers. **124**(4), 437–444.

TIAN, Jijing, Ye DING, Ruiping SHE, Longhuan MA, Fang DU, Kangkang XIA a Lili CHEN, 2017. Histologic study of testis injury after bisphenol A exposure in mice: Direct evidence for impairment of the genital system by endocrine disruptors. *Toxicology and Industrial Health* [online]. **33**(1), 36–45. ISSN 14770393. Dostupné z: doi:10.1177/0748233716658579

TRAPPHOFF, Tom, Martyna HEILIGENTAG, Nady EL HAJJ, Thomas HAAF a Ursula EICHENLAUB-RITTER, 2013. Chronic exposure to a low concentration of bisphenol A during follicle culture affects the epigenetic status of germinal vesicles and

metaphase II oocytes. *Fertility and Sterility* [online]. **100**(6), 1758-1767.e1. ISSN 15565653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2013.08.021

TRIPATHI, Anima, K. V. PREM KUMAR a Shail K. CHAUBE, 2010. Meiotic cell cycle arrest in mammalian oocytes. *Journal of Cellular Physiology* [online]. **223**(3), 592–600. ISSN 00219541. Dostupné z: doi:10.1002/jcp.22108

TURNER, James M.A., 2007. Meiotic sex chromosome inactivation. *Development* [online]. **134**(10), 1823–1831. ISSN 09501991. Dostupné z: doi:10.1242/dev.000018

ULLAH, Asad, Madeeha PIRZADA, Sarwat JAHAN, Hizb ULLAH a Muhammad Jamil KHAN, 2019. Bisphenol A analogues bisphenol B, bisphenol F, and bisphenol S induce oxidative stress, disrupt daily sperm production, and damage DNA in rat spermatozoa: a comparative in vitro and in vivo study. *Toxicology and Industrial Health* [online]. **35**(4), 294–303. ISSN 14770393. Dostupné z: doi:10.1177/0748233719831528

ULLAH, Asad, Madeeha PIRZADA, Sarwat JAHAN, Hizb ULLAH, Ghazala SHAHEEN, Humaira REHMAN, Mariyam Fatima SIDDIQUI a Maisra Azhar BUTT, 2018. Bisphenol A and its analogs bisphenol B, bisphenol F, and bisphenol S: Comparative in vitro and in vivo studies on the sperms and testicular tissues of rats. *Chemosphere* [online]. **209**, 508–516. ISSN 18791298. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2018.06.089

VAN DEN HURK, Robert a Jia ZHAO, 2005. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology* [online]. **63**(6), 1717–1751. ISSN 0093691X. Dostupné z: doi:10.1016/j.theriogenology.2004.08.005

VANDENBERG, Laura N., Theo COLBORN, Tyrone B. HAYES, Jerrold J. HEINDEL, David R. JACOBS, Duk Hee LEE, John Peterson MYERS, Toshi SHIODA, Ana M. SOTO, Frederick S. VOM SAAL, Wade V. WELSHONS a R. Thomas ZOELLER, 2013. Regulatory decisions on endocrine disrupting chemicals should be based on the principles of endocrinology. *Reproductive Toxicology* [online]. **38**, 1–15. ISSN 08906238. Dostupné z: doi:10.1016/j.reprotox.2013.02.002

VANDENBERG, Laura N., Theo COLBORN, Tyrone B. HAYES, Jerrold J. HEINDEL, David R. JACOBS, Duk Hee LEE, Toshi SHIODA, Ana M. SOTO, Frederick S. VOM SAAL, Wade V. WELSHONS, R. Thomas ZOELLER a John Peterson MYERS,

2012a. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: Low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocrine Reviews* [online]. **33**(3), 378–455. ISSN 0163769X. Dostupné z: doi:10.1210/er.2011-1050

VANDENBERG, Laura N., Theo COLBORN, Tyrone B. HAYES, Jerrold J. HEINDEL, David R. JACOBS, Duk Hee LEE, Toshi SHIODA, Ana M. SOTO, Frederick S. VOM SAAL, Wade V. WELSHONS, R. Thomas ZOELLER a John Peterson MYERS, 2012b. *Hormones and endocrine-disrupting chemicals: Low-dose effects and nonmonotonic dose responses* [online]. červen 2012. ISSN 0163769X. Dostupné z: doi:10.1210/er.2011-1050

VANDENBERG, Laura N., Russ HAUSER, Michele MARCUS, Nicolas OLEA a Wade V. WELSHONS, 2007. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology* [online]. **24**(2), 139–177. ISSN 08906238. Dostupné z: doi:10.1016/j.reprotox.2007.07.010

VERBANCK, Marie, Mickaël CANOUIL, Audrey LELOIRE, Véronique DHENNIN, Xavier COUMOUL, Loïc YENGO, Philippe FROGUEL a Odile POULAIN-GODEFROY, 2017. Low-dose exposure to bisphenols A, F and S of human primary adipocyte impacts coding and non-coding RNA profiles. *PLoS ONE* [online]. **12**(6), 1–20. ISSN 19326203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0179583

VERLHAC, M.H., H. de PENNART, B. MARO, M. H. COBB a H. J. CLARKE, 1993. MAP Kinase becomes stably activated at metaphase and is associated with microtubule-organizing centers during meiotic maturation of mouse oocytes. *Developmental Biology*. **158**, 330–340.

VIGODNER, Margarita, 2009. Sumoylation precedes accumulation of phosphorylated H2AX on sex chromosomes during their meiotic inactivation. *Chromosome Research* [online]. **17**(1), 37–45. ISSN 09673849. Dostupné z: doi:10.1007/s10577-008-9006-x

VILFAN, Igor D., Christine C. CONWELL a Nicholas V. HUD, 2004. Formation of Native-like Mammalian Sperm Cell Chromatin with Folded Bull Protamine. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **279**(19), 20088–20095. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M312777200

VIÑAS, P., N. CAMPILLO, N. MARTÍNEZ-CASTILLO a M. HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2010. Comparison of two derivatization-based methods for solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometric determination of bisphenol A, bisphenol S and biphenol migrated from food cans. In: *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. s. 115–125. ISSN 16182642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-010-3464-7

VIÑAS, René a Cheryl S. WATSON, 2013a. Bisphenol S disrupts estradiol-induced nongenomic signaling in a rat pituitary cell line: Effects on cell functions. *Environmental Health Perspectives* [online]. **121**(3), 352–358. ISSN 00916765. Dostupné z: doi:10.1289/ehp.1205826

VIÑAS, René a Cheryl S. WATSON, 2013b. Mixtures of xenoestrogens disrupt estradiol-induced non-genomic signaling and downstream functions in pituitary cells. *Environmental Health: A Global Access Science Source* [online]. **12**(1), 1–11. ISSN 1476069X. Dostupné z: doi:10.1186/1476-069X-12-26

VITKU, J., L. SOSVOROVA, T. CHLUPACOVA, R. HAMPL, M. HILL, V. SOBOTKA, J. HERACEK, M. BICIKOVA a L. STARKA, 2015. Differences in bisphenol A and estrogen levels in the plasma and seminal plasma of men with different degrees of infertility. *Physiological Research* [online]. **64**(October), S303–S311. ISSN 08628408. Dostupné z: doi:10.33549/physiolres.933090

VOM SAAL, Frederick S. a Wade V. WELSHONS, 2006. Large effects from small exposures. II. The importance of positive controls in low-dose research on bisphenol A. *Environmental Research* [online]. **100**(1), 50–76. ISSN 10960953. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2005.09.001

VON KOPYLOW, Kathrein, Hannah STAEGE, Andrej Nikolai SPIESS, Wolfgang SCHULZE, Hans WILL, Michael PRIMIG a Christiane KIRCHHOFF, 2012. Differential marker protein expression specifies rarefaction zone-containing human Adark spermatogonia. *Reproduction* [online]. **143**(1), 45–57. ISSN 14701626. Dostupné z: doi:10.1530/REP-11-0290

WALKER, Cheryl Lyn, 2016. Minireview: Epigenomic plasticity and vulnerability to EDC exposures. *Molecular Endocrinology* [online]. **30**(8), 848–855. ISSN 19449917. Dostupné z: doi:10.1210/me.2016-1086

WANG, Siyao, David H. MEYER a Björn SCHUMACHER, 2020. H3K4me2 regulates the recovery of protein biosynthesis and homeostasis following DNA damage. *Nature Structural and Molecular Biology* [online]. **27**(12), 1165–1177. ISSN 15459985. Dostupné z: doi:10.1038/s41594-020-00513-1

WANG, Teng, Jun HAN, Xing DUAN, Bo XIONG, Xiang Shun CUI, Nam Hyung KIM, Hong Lin LIU a Shao Chen SUN, 2016. The toxic effects and possible mechanisms of bisphenol A on oocyte maturation of porcine in vitro. *Oncotarget* [online]. **7**(22), 32554–32565. ISSN 19492553. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.8689

WANG, Wei, Khalid O. ABUALNAJA, Alexandros G. ASIMAKOPOULOS, Adrian COVACI, Bondi GEVAO, Boris JOHNSON-RESTREPO, Taha A. KUMOSANI, Govindan MALARVANNAN, Tu Binh MINH, Hyo Bang MOON, Haruhiko NAKATA, Ravindra K. SINHA a Kurunthachalam KANNAN, 2015. A comparative assessment of human exposure to tetrabromobisphenol A and eight bisphenols including bisphenol A via indoor dust ingestion in twelve countries. *Environment International* [online]. **83**, 183–191. ISSN 18736750. Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2015.06.015

WASSARMAN, Paul M. a Wendy J. JOSEFOWICZ, 1978. Oocyte development in the mouse: An ultrastructural comparison of oocytes isolated at various stages of growth and meiotic competence. *Journal of Morphology* [online]. **156**(2), 209–235. ISSN 10974687. Dostupné z: doi:10.1002/jmor.1051560206

WEN, Qing, Elizabeth I. TANG, Ying GAO, Tito T. JESUS, Darren S. CHU, Will M. LEE, Chris K.C. WONG, Yi Xun LIU, Xiang XIAO, Bruno SILVESTRINI a C. Yan CHENG, 2018. Signaling pathways regulating blood–tissue barriers — Lesson from the testis. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* [online]. **1860**(1), 141–153. ISSN 18792642. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbamem.2017.04.020

WONG, Katelyn H. a Timur S. DURRANI, 2017a. Exposures to Endocrine Disrupting Chemicals in Consumer Products—A Guide for Pediatricians. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care* [online]. **47**(5), 107–118. ISSN 15383199. Dostupné z: doi:10.1016/j.cppeds.2017.04.002

WONG, Katelyn H. a Timur S. DURRANI, 2017b. Exposures to Endocrine Disrupting Chemicals in Consumer Products—A Guide for Pediatricians. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care* [online]. **47**(5), 107–118. ISSN 15383199.

Dostupné z: doi:10.1016/j.cppeds.2017.04.002

WU, Liu Hong, Xue Mei ZHANG, Fei WANG, Chong Jing GAO, Da CHEN, Jillian R. PALUMBO, Ying GUO a Eddy Y. ZENG, 2018. *Occurrence of bisphenol S in the environment and implications for human exposure: A short review* [online]. 15. únor 2018. B.m.: Elsevier B.V. ISSN 18791026. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2017.09.194

WYCK, Sarah, Carolina HERRERA, Cristina E. REQUENA, Lilli BITTNER, Petra HAJKOVA, Heinrich BOLLWEIN a Raffaella SANTORO, 2018. Oxidative stress in sperm affects the epigenetic reprogramming in early embryonic development 06 Biological Sciences 0604 Genetics 11 Medical and Health Sciences 1114 Paediatrics and Reproductive Medicine 06 Biological Sciences 0601 Biochemistry and Cell . *Epigenetics and Chromatin* [online]. **11**(1), 1–17. ISSN 17568935. Dostupné z: doi:10.1186/s13072-018-0224-y

WYKES, Susan M. a Stephen A. KRAWETZ, 2003. The structural organization of sperm chromatin. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **278**(32), 29471–29477. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M304545200

XIAO, Shuo, Honglu DIAO, Mary Alice SMITH, Xiao SONG a Xiaoqin YE, 2011. Preimplantation exposure to bisphenol A (BPA) affects embryo transport, preimplantation embryo development, and uterine receptivity in mice. *Reproductive Toxicology* [online]. **32**(4), 434–441. ISSN 08906238. Dostupné z: doi:10.1016/j.reprotox.2011.08.010

YAMADA, Hideto, Itsuko FURUTA, Emi H. KATO, Soromon KATAOKA, Yasuteru USUKI, Gen KOBASHI, Fumihiko SATA, Reiko KISHI a Seiichiro FUJIMOTO, 2002. Maternal serum and amniotic fluid bisphenol A concentrations in the early second trimester. *Reproductive Toxicology* [online]. **16**(6), 735–739. ISSN 08906238. Dostupné z: doi:10.1016/S0890-6238(02)00051-5

YAMAZAKI, Eriko, Nobuyoshi YAMASHITA, Sachi TANIYASU, James LAM, Paul K.S. LAM, Hyo Bang MOON, Yunsun JEONG, Pranav KANNAN, Hema ACHYUTHAN, Natesan MUNUSWAMY a Kurunthachalam KANNAN, 2015. Bisphenol A and other bisphenol analogues including BPS and BPF in surface water samples from Japan, China, Korea and India. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. **122**, 565–572. ISSN 10902414. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoenv.2015.09.029

YAN CHENG, C. a Dolores D. MRUK, 2012. The blood-testis barrier and its

implications for male contraception. *Pharmacological Reviews* [online]. **64**(1), 16–64. ISSN 00316997. Dostupné z: doi:10.1124/pr.110.002790

YAWER, Affiefa, Eliška SYCHROVÁ, Petra LABOHÁ, Jan RAŠKA, Tomáš JAMBOR, Pavel BABICA a Iva SOVADINOVÁ, 2020. Endocrine-disrupting chemicals rapidly affect intercellular signaling in Leydig cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. **404**(July). ISSN 10960333. Dostupné z: doi:10.1016/j.taap.2020.115177

YAWER, Affiefa, Eliška SYCHROVÁ, Jan RAŠKA, Pavel BABICA a Iva SOVADINOVÁ, 2022. Endocrine-disrupting chemicals affect Sertoli TM4 cell functionality through dysregulation of gap junctional intercellular communication in vitro. *Food and Chemical Toxicology* [online]. **164**(January). ISSN 18736351. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2022.113004

YOSHIDA, Shosei, Mamiko SUKENO, Toshinori NAKAGAWA, Kazuyuki OHBO, Go NAGAMATSU, Toshio SUDA a Yo Ichi NABESHIMA, 2006. The first round of mouse spermatogenesis is a distinctive program that lacks the self-renewing spermatogonia stage. *Development* [online]. **133**(8), 1495–1505. ISSN 09501991. Dostupné z: doi:10.1242/dev.02316

YU, Xiaohua, Jingchuan XUE, Hong YAO, Qian WU, Arjun K. VENKATESAN, Rolf U. HALDEN a Kurunthachalam KANNAN, 2015. Occurrence and estrogenic potency of eight bisphenol analogs in sewage sludge from the U.S. EPA targeted national sewage sludge survey. *Journal of Hazardous Materials* [online]. **299**, 733–739. ISSN 18733336. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2015.07.012

YUAN, Shuiqiao, Andrew SCHUSTER, Chong TANG, Tian YU, Nicole ORTOGERO, Jianqiang BAO, Huili ZHENG a Wei YAN, 2016. Sperm-borne miRNAs and endo-siRNAs are important for fertilization and preimplantation embryonic development. *Development (Cambridge)* [online]. **143**(4), 635–647. ISSN 14779129. Dostupné z: doi:10.1242/dev.131755

ZHANG, Ming Yu, Yu TIAN, Zi Hui YAN, Wei Dong LI, Chuan Jie ZANG, Lan LI, Xiao Feng SUN, Wei SHEN a Shun Feng CHENG, 2020. Maternal Bisphenol S exposure affects the reproductive capacity of F1 and F2 offspring in mice. *Environmental Pollution* [online]. **267**, 115382. ISSN 18736424. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2020.115382

ZHANG, Wenjuan, Tao HUANG, Zhangbei SUN, Haibin KUANG, Yangyang YUAN, Weiying ZOU, Fangming LIU, Fan ZHANG, Bei YANG, Lei WU a Dalei ZHANG, 2022. Bisphenol S exposure induces cytotoxicity in mouse Leydig cells. *Food and Chemical Toxicology* [online]. **160**(December 2021), 112805. ISSN 18736351. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2021.112805

ZHANG, Yin Feng, Xiao Min REN, Yuan Yuan LI, Xiao Fang YAO, Chuan Hai LI, Zhan Fen QIN a Liang Hong GUO, 2018. Bisphenol A alternatives bisphenol S and bisphenol F interfere with thyroid hormone signaling pathway in vitro and in vivo. *Environmental Pollution* [online]. **237**, 1072–1079. ISSN 18736424. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2017.11.027

ZHONG, Hui Zhi, Fu Tong LV, Xue Lian DENG, Ying HU, Dan Ni XIE, Bin LIN, Zeng Nan MO a Fa Quan LIN, 2015. Evaluating γ H2AX in spermatozoa from male infertility patients. *Fertility and Sterility* [online]. **104**(3), 574–581. ISSN 15565653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2015.06.004

ZHOU, Yu a Yunyan WANG, 2022. Action and Interaction between Retinoic Acid Signaling and Blood-Testis Barrier Function in the Spermatogenesis Cycle. *Cells* [online]. **11**(3), 1–10. ISSN 20734409. Dostupné z: doi:10.3390/cells11030352

ZIV-GAL, Ayelet, Wei WANG, Changqing ZHOU a Jodi A. FLAWS, 2015. The effects of in utero bisphenol A exposure on reproductive capacity in several generations of mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. **284**(3), 354–362. ISSN 10960333. Dostupné z: doi:10.1016/j.taap.2015.03.003

Poděkování

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování svému školiteli, panu doc. Janu Nevoralovi, Ph.D. za skvělé vedení po celou dobu mého doktorského studia, za cenné rady a zkušenosti v oblasti vědecké a laboratorní práce, za stálou motivaci k lepším výkonům a podporu při každé překážce a těžkosti. Též musím poděkovat za trpělivost, laskavost a vytvoření pracovního prostředí, na které budu s láskou vzpomínat po zbytek života.

Také bych chtěla poděkovat panu Ing. Jiřímu Moravcovi Ph.D., za cenné rady a možnost vyzkoušet si nové laboratorní metody z oblasti proteomiky. Díky patří i našemu skvělému kolektivu, panu Ing. Václavu Růčkovi, Ing. Vendule Sudové, Ing. Jiřině Havránkové, Ing. Hedvice Řimnáčové, Ing. Šárce Prokešové, Ph.D. a Maríi Iniestě Cuerdě, Ph.D., za jejich rady, podporu a přátelství.

9 Přílohy

P1

PROKEŠOVÁ, Šárka, Kamar GHAIBOUR, František LIŠKA, Pavel KLEIN, Tereza FENCLOVÁ, Miriama ŠTIAVNICKÁ, Petr HOŠEK, Tereza ŽALMANOVÁ, Kristýna HOŠKOVÁ, Hedvika ŘIMNÁČOVÁ, Jaroslav PETR, Milena KRÁLÍČKOVÁ a Jan NEVORAL. Acute low-dose bisphenol S exposure affects mouse oocyte quality. *Reproductive Toxicology* [online]. 2020, 93, 19-27 [cit. 2022-06-10]. ISSN 08906238. Dostupné z: doi:10.1016/j.reprotox.2019.12.005 (IF= 3,143)

P2

ŘIMNÁČOVÁ, Hedvika, Miriam ŠTIAVNICKÁ, Jiří MORAVEC, Yaroslav KOLINKO, Olga GARCÍA-ALVAREZ, Peter R. MOUTON, Azalia Mariel CARRANZA TREJO, Tereza FENCLOVÁ, Nikol ERETOVÁ, Petr HOŠEK, Pavel KLEIN, Milena KRÁLÍČKOVÁ a Jan NEVORAL. Low doses of Bisphenol S affect post-translational modifications of sperm proteins in male mice. *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. 2020, 18(1) [cit. 2022-06-10]. ISSN 1477-7827. Dostupné z: doi:10.1186/s12958-020-00596-x (IF= 5,017)

P3

NEVORAL, Jan, Jiřina HAVRÁNKOVÁ, Yaroslav KOLINKO, Šárka PROKEŠOVÁ, Tereza FENCLOVÁ, Ladan MONSEF, Tereza ŽALMANOVÁ, Jaroslav PETR a Milena KRÁLÍČKOVÁ. Exposure to alternative bisphenols BPS and BPF through breast milk: Noxious heritage effect during nursing associated with idiopathic infertility. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. 2021, 413 [cit. 2022-06-10]. ISSN 0041008X. Dostupné z: doi:10.1016/j.taap.2021.115409 (IF= 4,219)

P4

FENCLOVÁ, Tereza, Hedvika ŘIMNÁČOVÁ, Marouane CHEMEK, Jiřina HAVRÁNKOVÁ, Pavel KLEIN, Milena KRÁLÍČKOVÁ a Jan NEVORAL. Nursing Exposure to Bisphenols as a Cause of Male Idiopathic Infertility. *Frontiers in Physiology* [online]. 2022, 13 [cit. 2022-06-10]. ISSN 1664-042X. Dostupné z: doi:10.3389/fphys.2022.725442 **(IF= 4,566)**

P5

FENCLOVÁ, Tereza, Marouane CHEMEK, Jiřina HAVRÁNKOVÁ, Yaroslav KOLINKO, Vendula SUDOVÁ, Jiří MORAVEC, Jana NAVRÁTILOVÁ, Pavel KLEIN, Milena KRÁLÍČKOVÁ a Jan NEVORAL. Effect of bisphenol S on testicular tissue after low-dose nursing exposure. *Environmental Pollution*. 2022 [cit. 2022-06-10]. Under review. **(IF= 8,071)**