

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Natálie Klímová

Vliv chemoterapie na mužskou plodnost
The impact of chemotherapy on male fertility

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Michaela Frolíková, Ph.D.

Praha, 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V dne

.....

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala mé vedoucí práce RNDr. Michaelle Frolíkové, Ph.D., za její cenné rady, ochotu a trpělivost při psaní mé bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala mé rodině a blízkému okolí za podporu během celého studia.

Abstrakt

Chemoterapie, jako primární léčebná metoda mnoha typů rakoviny, je spojena s řadou vedlejších účinků, včetně potenciálního negativního dopadu na mužskou plodnost. Působení chemoterapie interferuje s procesem spermatogeneze, klíčovou součástí mužské reprodukce, jejíž každá část je vysoce citlivá na negativní vlivy, které ji mohou pozastavit, nebo trvale poškodit. Nejcitlivější k účinkům chemoterapie jsou aktivní mitotické a meiotické fáze, při kterých dochází k dělení a diferenciaci spermatogenních buněk. Tato stadia jsou zasažena kvůli vysoké aktivitě buněčného dělení a zvýšené potřebě buněčného růstu, což je shodný aspekt, který sdílí s rakovinovými buňkami, proti kterým jsou cytostatika primárně zaměřena. Chemoterapeutické látky však mohou ovlivnit i funkci Sertoliho buněk a Leydigových buněk, podílejících se na regulaci spermatogeneze. Neplodnost pozorovaná po chemoterapeutické léčbě tak může být výsledkem jak přímého poškození zárodečných buněk, tak nepřímého poškození endokrinní a parakrinní kontroly somatických buněk. Díky včasné diagnostice a pokroku v léčebných technologiích se množství úspěšně vyléčených pacientů trpících rakovinou stále zvyšuje. Nicméně ochrana mužské plodnosti během onkologické léčby zůstává aktuálním tématem. Hlavní náplní této bakalářské práce je diskuse vlivu chemoterapie na mužskou plodnost zahrnující představení různých druhů cytostatik a mechanismu jejich účinku na reprodukci, včetně prezentace způsobů ochrany mužské plodnosti v průběhu léčby. Práce dále zahrnuje výzkumné oblasti, které se zdají být cestou ke snížení gonadotoxického účinku léčby a ke zvýšení účinnosti chemoterapie jako takové.

Klíčová slova: chemoterapie, mužská plodnost, léčba rakoviny, ochrana plodnosti

Abstarct:

Chemotherapy, as the primary treatment method for many types of cancer, is associated with a number of side effects, including a potential negative impact on male fertility. The action of chemotherapy interferes with the process of spermatogenesis, a key part of male reproduction, every part of which is highly sensitive to negative influences that can suspend it or permanently damage it. The most sensitive to the effects of chemotherapy are the active mitotic and meiotic phases, during which spermatogenic cells divide and differentiate. These stages are affected because of the high activity of cell division and the increased need for cell growth, a common aspect shared with the cancer cells against which cytostatics are primarily directed. However, chemotherapeutic agents can also affect the function of Sertoli cells and Leydig cells, which are involved in the regulation of spermatogenesis. Infertility observed after chemotherapy treatment can thus be the result of both direct damage to germ cells and indirect damage to endocrine and paracrine control of somatic cells. Thanks to early diagnosis and advances in treatment technologies, the number of successfully cured cancer patients continues to increase. Nevertheless, the protection of male fertility during oncological treatment remains a current topic. The main content of this bachelor's thesis is the discussion of the effect of chemotherapy on male fertility, including the presentation of various types of cytostatics and the mechanism of their effect on reproduction, including the presentation of ways how to protect male fertility during treatment. The work also includes research areas that seem to be the way to reduce the gonadotoxic effect of treatment and to increase the effectiveness of chemotherapy as such.

Keywords: chemotherapy, male fertility, cancer treatment, protection of fertility

Obsah

Seznam použitých zkratk.....	1
Seznam obrázků.....	1
Úvod	2
1. Spermatogeneze.....	3
2. Vznik nádorů.....	7
3. Chemoterapie	9
3.1. Druhy chemoterapie.....	10
3.2. Nežádoucí účinky	11
3.2.1. Znaky a způsoby ovlivnění plodnosti	11
3.2.2. Nástroje pro detekci neplodnosti	13
4. Ochrana plodnosti.....	16
4.1. Kryoprezervace spermatu.....	17
4.2. Volba cytostatik.....	17
4.3. Způsob podávání, dávkování chemoterapie	18
4.4. Obnova plodnosti po léčbě	19
Závěr	21
Seznam použité literatury.....	22
Zdroje obrázků.....	32

Seznam použitých zkratk

FSH – Folikuly stimulační hormon

LH – Luteinizační hormon

CSCs – Cancer stem cells, rakovinové kmenové buňky

DNA – Deoxyribonukleová kyselina

ROS – Reactive oxygen species, reaktivní formy kyslíku

NDDS – Nano-drug delivery systems, nanopřenašeče

IVF – In vitro fertilisation, způsob mimotělního oplodnění

ICSI – Intracytoplazmatická injekce spermie

FISH – Fluorescenční in situ hybridizace

CHOP – Cyklofosfamid, doxorubicin, vinkristin a prednison

MOPP – Mechlorethamin, vinkristin, prokarbazin a prednison

ABV – Doxorubicin, bleomycin a vinblastin

ABVD – Doxorubicin hydrochlorid, bleomycin, vinblastin a dakarbazin

BEP – Bleomycin, Etoposid a cisPlatin

Seznam obrázků

Obrázek 1 – Schéma hlavních buněčných typů spermatogeneze

Obrázek 2 – Reprezentativní snímky získané různými metodami používanými k hodnocení jádra spermií

Obrázek 3 – Metoda ICSI: injekce spermií do oocyту

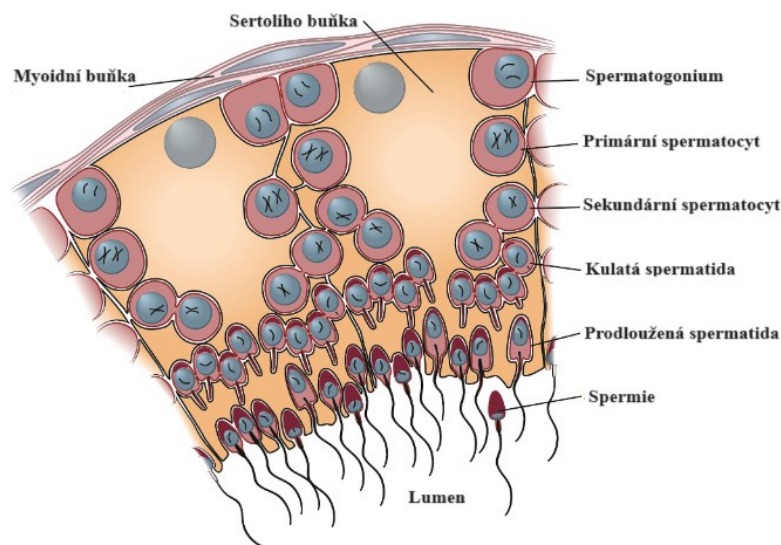
Úvod

Mužské reprodukční zdraví se stává jedním z hlavních témat 21. století. Mužská reprodukční schopnost je totiž ovlivňována spoustou faktorů, které se proměňují ve fenomény současnosti a propisují se do každodenního života. Kvalitu spermatu nepříznivě ovlivňuje nezdravý životní styl, diabetes, obezita, hormonální onemocnění, testikulární traumata, sexuální dysfunkce, nebo různé typy terapií od chirurgických po radioterapie a chemoterapie (Pizzol et al. 2014). Chemoterapie tvoří základ léčby rakoviny. Toxicita spojená s léčbou rakoviny může u vyléčených pacientů generovat dlouhodobé vedlejší účinky, jedním z nichž je neplodnost (Benedict et al. 2016). Ta vzniká především důsledkem narušení procesu spermatogeneze cytostatiky (Yumura et al. 2022). Více studií zabývajících se vlivem chemoterapie na mužskou plodnost ukazuje, že neplodnost po podstoupení léčby není vzácným jevem. Tyto studie naznačují, že chemoterapie může mít negativní dopad jak na spermatogenezi, tak na samotnou kvalitu spermií, což vede k snížení plodnosti u postižených mužů. Různé léčebné režimy a typy použitých léčiv mohou mít různý stupeň vlivu, avšak je zjevné, že ochrana a péče o mužskou plodnost během onkologické léčby je klíčová pro minimalizaci dlouhodobých následků na reprodukční zdraví pacientů (Baker et al. 2005; Bieber et al. 2006; Codrington et al. 2004; Stephenson et al. 1995).

Obsahem této bakalářské práce je shrnutí a diskuse doposud publikovaných poznatků o problematice mužské plodnosti ve spojitosti s prodělanou chemoterapií. Práce se zaměřuje zejména na charakteristiku chemoterapie jako takové, popis mechanismu různých chemoterapeutik a způsobů, jak ovlivňují mužské reprodukční zdraví. Pro lepší orientaci v dané problematice popisuje práce v úvodu nejprve proces spermatogeneze a vývoje nádorového onemocnění a následně přináší informace o možných způsobech ochrany mužské plodnosti v průběhu chemoterapeutické léčby včetně těch, které jsou stále ve fázi výzkumu. Ty by v budoucnu mohly pomoci minimalizovat škodlivé vedlejší účinky chemoterapie a zlepšit kvalitu života pacientů po prodělané léčbě. Tato práce si bere za cíl přispět k lepšímu porozumění možných dopadů chemoterapie na mužskou plodnost a případně navrhnout směr, kterým by se mohl ubírat vývoj nových terapeutických přístupů k ochraně a obnově mužské plodnosti po prodělané chemoterapii.

1. Spermatogeneze

Proces spermatogeneze probíhá ve varlatech, což je mužská pohlavní žláza, jejíž hlavní dvě funkce jsou produkce spermií a androgenů (hl. testosteronu) (Trost et al. 2023). V rámci spermatogeneze dochází pomocí buněčného mitotického dělení k diferenciaci spermatocyty z kmenové buňky spermatogonie a dále díky meiotickému dělení k produkci haploidních spermatid z tetraploidních primárních spermatocytů. Oba děje probíhají ve vysoce organizované struktuře semenotvorných kanálků varlat (viz Obr.1) (Nishimura a L'Hernault 2017).



Obrázek 1 – Schéma hlavních buněčných typů spermatogeneze

Znárodnění progresu buněk od bazální laminy ze stádia spermatogonie až po stádium spermie v lumen semenotvorného kanálku (příčný řez). V každé fázi vývoje mužské zárodečné buňky je v jádru zdůrazněna ploidie. Dále je zde zobrazena pozice Sertoliových buněk a myoidních buněk v rámci semenotvorného kanálku. Převzato a upraveno: (Trost et al. 2023)

Celý vývoj spermie začíná u kmenových buněk zvaných spermatogonie, které mají původ v primordiálních kmenových buňkách. Primordiální kmenové buňky vznikají v brzkém embryonálním vývoji, diferencují na gonocyty, které jsou přítomny po celou dobu vývoje plodu a dále po narození diferencují ve spermatogonie. Ze spermatogonií jsou odvozeny, procesy buněčné proliferace a diferenciaci, všechny následně popsány buněčné typy (Trost et al. 2023). Ačkoli chemoterapeutická léčba může ovlivnit různé fáze spermatogeneze, největší dopad má obvykle právě na spermatogonie a spermatocyty, které jsou aktivně se dělicími buňkami (Drewinko et al. 1981). Spermatogonie typu A prodělávají sérii mitotických dělení za vzniku spermatogonií A₁ až A₄ a následně diferencující ve středně pokročilé spermatogonie, které se dále dělí na spermatogonie typu B. Ty dávají mitotickým dělením vznik tetraploidním primárním spermatocytům (Nishimura a L'Hernault 2017). Tyto rané

fáze jsou zasaženy především v důsledku účinků chemoterapeutických látek na buněčný cyklus a replikační proces spermatogonií a spermatocytů. Jelikož chemoterapeutické látky často inhibují buněčné dělení mohou poškodit jak buněčnou strukturu tak funkci těchto buněk (Meistrich et al. 1982). Chemoterapeutika, která napodobují strukturu nukleových kyselin a interferují s procesem syntézy DNA, mohou v germinálních buňkách zastavit vlastní syntézu DNA (Mini et al. 2006). Další látky reagují s mikrotubuly, což jsou struktury důležité pro správné rozdělení chromozomů během buněčného dělení. Tento zásah způsobuje stagnaci buněk ve fázi mitózy nebo meiózy a neschopnost buněk dělení dokončit (Komlodi-Pasztor et al. 2011). Některé chemoterapeutické látky jsou genotoxické, což znamená, že poškozují DNA v buňkách. Pokud jsou narušeny geny nezbytné pro správnou funkci spermatogonií a spermatocytů, může tato situace vést k poruchám jejich vývoje a diferenciaci. To je vyvoláno například alkylací DNA alkylačními skupinami chemoterapeutik, které reagují s DNA a mění její strukturu, což způsobuje poruchy párování bází nebo zablokování procesu replikace (Green et al. 2014; Bignold 2006). Některé látky zvyšují hladinu reaktivních kyslíkových druhů v buňce, což vede k oxidačním poškozením DNA. Dochází k tvorbě oxidovaných bází DNA a zlomů řetězce, což má za následek poruchy replikace a transkripce DNA (Aitken et al. 1998). Rozsáhlá poškození DNA mohou aktivovat signální dráhu nazvanou DNA damage response (DDR), která vede k aktivaci apoptických mechanismů (O'Connor 2015). Buněčný stres, například oxidativní stres nebo endoplazmatický retikulární stres, je dalším spouštěčem apoptické dráhy (Mizutani et al. 2005; Kuwabara et al. 2015). Všechny tyto mechanismy porušují integritu DNA spermií, která je zásadní pro jejich správnou funkci (Ward a Coffey 1991). Porušení integrity DNA vede k fragmentaci DNA, kdy vznikají jednořetězcové nebo dvouřetězcové zlomy v genomu spermií (Agarwal et al. 2022). Vlivem chemoterapeutik tak často dochází ke zvýšení fragmentace DNA spermií (Delbes et al. 2007).

Primární spermatocyty následně vstupují do prvního tzv. redukčního meiotického dělení za vzniku diploidních sekundárních spermatocytů (Nishimura a L'Hernault 2017). Meióza vykazuje podobnou citlivost k chemoterapeutické léčbě jako mitóza, vlivem obdobných mechanismů účinku používaných látek, které vyvolávají poškození DNA, poruchu mikrotubulů nebo aktivaci apoptózy (Komlodi-Pasztor et al. 2011; Green et al. 2014; O'Connor 2015). Působí zde například i cytostatika, která podporují tvorbu křížových vazeb mezi dvěma řetězci DNA, což brání jejich oddělení během buněčného dělení (Lin et al. 2022). Druhé meiotické tzv. ekvální dělení, které již probíhá bez replikace DNA, dává

vznik čtyřem haploidním spermatidám (Nishimura a L'Hernault 2017). Jejich vývoj dále pokračuje v procesu označovaném jako spermiogeneze, během něhož se kulaté spermatidy mění v elongované spermie schopné pohybu a po dokončení všech fází jejich maturace oplození vajíčka. V průběhu spermiogeneze dochází mimo jiné ke kondenzaci a elongaci jádra spermatidy, biogenezi akrozomu a tvorbě bičíku (Nishimura a L'Hernault 2017). Během spermiogeneze se výrazně mění vlastnosti spermatické DNA, DNA maturovaných spermií se liší od DNA somatických buněk v několika ohledech. Jak již bylo zmíněno, spermie mají na rozdíl od somatických buněk pouze jednu sadu chromozomů (DiSilvestro et al. 2023). Během procesu meiózy, navíc dochází ke genetické rekombinaci, která mezi jednotlivými spermiemi vytváří genetickou variabilitu (Tempest 2011). Navíc je ve srovnání se somatickými buňkami chromatin ve spermiích díky jedinečným asociacím mezi DNA a jadernými proteiny (především protaminy) silně kondenzován (Brewer et al. 1999). Během procesu kondenzace DNA spermií jsou jejich histony hyperacetylovány a postupně z velké části nahrazeny protaminy, které mají k DNA vyšší afinitu (Francis et al. 2014). Chromatin je díky tomu organizován do velmi stabilní toroidní struktury a DNA spermie je tak 6× kondenzovanější než v somatických buňkách (Balhorn et al. 2000). Právě specifika DNA spermií, jako je rychlá reprodukce a haploidní povaha, znamenají, že jsou zvláště citlivé na účinky chemoterapie (Drewinko et al. 1981). Shodným aspektem mezi spermatickými buňkami a somatickými buňkami poškozenými chemoterapií je schopnost chemoterapie poškodit jejich DNA. Jelikož chemoterapeutika nejsou selektivní a cílí na DNA rychle se dělících buněk, mohou tak kromě somatických buněk poškozovat i buňky zárodečné (Hansen et al. 2013). Na konci procesu spermiogeneze jsou nově vzniklé spermie uvolněné do lumen semenotvorného kanálku a pokračují v maturaci v rámci nadvarlete (Trost et al. 2023).

Na regulaci spermatogeneze se podílí somatické buňky přítomné ve varlatech. Poskytují strukturální a metabolickou podporu a přispívají k řízení mikroprostředí, které je důležité pro správný vývoj zárodečných buněk (Safian et al. 2019). Zásadní roli pro správný průběh spermatogeneze představují somatické Sertoliho buňky. Poškození struktury semenotvorných kanálků, kde jsou Sertoliho buňky lokalizovány, chemoterapií, může ovlivnit jejich schopnost poskytovat fyzickou podporu a stimulaci pro spermatogenezi. Chemoterapeutické látky mohou ovlivnit produkci růstových faktorů Sertoliho buňkami, které jsou pro správný vývoj spermií nezbytné. Bylo prokázáno, že snížená produkce těchto faktorů může diferenciaci a vývoj spermatogonií negativně ovlivnit (Bar-Shira Maymon et al. 2004; Griswold 1998).

Hlavními hormony regulace spermatogeneze jsou testosteron a folikuly stimulační hormon (FSH). Ovlivňují formování varlat v embryu a spermatogenezi u dospělých díky svému vlivu na bezprostřední okolí vyvíjejících se zárodečných buněk. Testosteron je esenciální pro průběh spermatogeneze. FSH zvyšuje počet Sertoliho buněk a tím uvolňování spermií (Griswold 1998).

Další pomocné buňky, přítomné v okolí semenotvorných kanálků, jsou Leydigovy buňky. Jsou přítomny již ve fetální fázi vývoje (Habert et al. 2001). Jejich hlavní funkcí je metabolický proces přeměny cholesterolu v testosteron, který, jak je výše zmíněno, podporuje zrání spermií (Hall et al. 1969). Nejen produkce androgenních hormonů, ale veškeré biosyntetické funkce Leydigových buněk jsou regulovány luteinizačním hormonem (LH) (Ewing et al. 1983). Chemoterapie může mít negativní vliv na produkci testosteronu Leydigovými buňkami. To vede k hormonálním nerovnováhám a snížení hladiny testosteronu, což má za následek problémy s reprodukcí a dalšími hormonálními funkcemi (Gerl et al. 2001). Dále chemoterapeutické látky ovlivňují funkce buněčných organel. Zásadní pro Leydigovy buňky jsou mitochondrie. Poškození mitochondrií, jako hlavního producenta energie, může ovlivnit jejich schopnost tvořit testosteron a další metabolické funkce (Stanley a Akbarsha 1994).

2. Vznik nádorů

Nádorové onemocnění se vyznačuje mimořádně zvýšenou buněčnou proliferací. Nádor může vzniknout z jakékoliv buněčné struktury, která dále ve větším měřítku tvoří tkáň a orgány (Egeblad et al. 2008). Tato přeměna je způsobena akumulací genetických chyb a různými epigenetickými změnami. Nádor jako takový představuje abnormální tkáň s fenotypicky heterogenními buňkami, které vykazují různé úrovně diferenciace (Kopper a Hajdú 2004). Zjednodušeně se dá tento proces popsat jako přeměna zdravé buňky do buňky rakovinotvorné, která svým chováním vybočuje ze své standardní funkce a narušuje tak buněčnou homeostázi (Berdasco a Esteller 2010). Při útlumu imunitního systému, což může zapříčinit například chronický stres, pokročilý věk nebo předchozí chemoterapeutická léčba (Vajdic a van Leeuwen 2009), nebo při použití jedné z unikových strategií tumorových buněk před imunitním systémem, dochází k neschopnosti imunitního systému rozpoznat a zničit rakovinnou buňku (Yang et al. 2010). Ta má poté možnost pokračovat dál ve zvýšeném buněčném dělení a formuje se nádor. Mikroprostředí nádorů obsahuje odlišné buněčné typy a podtypy, které společně umožňují a podporují růst a progresi nádoru (Lyssiotis a Kimmelman 2017). Transformace zdravé buňky v nádorovou je podmíněna mnoha vnějšími faktory, které se dělí do několika kategorií. Fyzikální důvody představuje ionizující a UV záření (Poorsattar a Hornung 2007), chemické faktory jsou způsobeny různými chemickými látkami, jako například těžkými kovy (Poirier 2012), a biologické příčiny jsou nejvíce virového původu (Kimbauer et al. 1993). Do vnějších faktorů se dá zahrnout i životní styl pacienta, tedy nízká pohybová aktivita, kouření, nevhodná strava, vysoký stres, hormonální dysbalance a tak dále (Weiderpass 2010). Molekulární podstatou nádorového vzniku je mutace buněčné DNA, která následně vede k nekontrolované expresi onkogenů a tumor supresorových genů (Burkhart a Sage 2008), což v konečném důsledku vede k alternativní expresi stovek dalších genů (Davies a Samuels 2010).

V posledních letech v rámci zlepšení terapeutické nádorové léčby je zkoumaná hypotéza rakovinových kmenových buněk, cancer stem cells (CSCs) (Mayer et al. 2015). Tato hypotéza předpokládá, že nádory se skládají z hierarchie buněk s různými proliferačními kapacitami a že jen část těchto buněk je schopná nádorové iniciace a dlouhodobé propagace. Tyto rakovinové kmenové buňky mají mnoho fenotypových a funkčních vlastností spojených s normálními kmenovými buňkami. Oba tyto buněčné typy mají společné dvě základní charakteristiky – vysoká sebeobnova a schopnost vyvinout se v další buněčný typ (Chen et al. 2013). Dá se usuzovat, že se u nich vyskytují podobné

mechanismy regulace sebeobnovy. Například vysoká telomerázová aktivita, která zamezuje zkracování chromozomů, a tím pádem také zamezuje buněčné smrti z dosažení kritické délky chromozomu (Artandi a DePinho 2010). Jako další taktika pro zachování dlouhého buněčného života je inhibice apoptózy, která je pozorována jak u CSCs, tak u klasických kmenových buněk (Domen a Weissman 2000). Existence nádorových kmenových buněk byla navržena, protože je jednodušší zachovat schopnost sebeobnovy než tento program znovu reaktivovat již v diferencovaných buňkách. Kmenové buňky navíc žijí mnohem déle než ty diferencované, a tak jsou delší dobu vystaveny ničivým faktorům, které způsobují genové chyby vedoucí ke zhroucení regulace (Kopper a Hajdú 2004). Tato definice je doplněná důkazem expresí CSC markerů, které jsou také exprimovány normálními kmenovými buňkami. Například *Bmi-1*, nedávno popsán jako protoonkogen, je stejně důležitý pro proliferaci klasických hematopoetických kmenových buněk, ale i pro udržení proliferace leukemických buněk (Lessard a Sauvageau 2003). Pokud by existence nádorových kmenových buněk byla potvrzena, mohly by se stát hlavním cílem protinádorové léčby, jelikož ostatní buňky mají omezenou proliferaci, tedy také omezenou životnost. Problém ovšem je neustálý vývoj CSCs, což znemožňuje jejich přesnou identifikaci a prevenci jejich vzniku (Kopper a Hajdú 2004). Nejspíše by tyto buňky mohly způsobovat vyšší rezistenci vůči terapeutické léčbě a nádorovou recidivu po vyléčení (Azam et al. 2010). Další cíl léčby by mohl mířit na signální dráhy, které jsou regulovány v kmenových buňkách a jsou specifické pro jejich funkčnost, ovšem jejich mutagenese podporuje maligní transformaci. Jedná se o dráhy Hedgehog, Wnt, Notch a NF- κ B. Tyto dráhy se podílejí na regulaci cílových genů pro proliferaci, přežití buňky a její diferenciaci, zastávají důležitou roli v buněčné sebeobnově. Také nádorové mikroprostředí a ABC transportéry se zdají být potencionálními cíli deplece CSC (Feitelson et al. 2015; Phi et al. 2018). Cílená léčba se zaměřuje na specifické molekulární cíle v rakovinných buňkách, což může vést k minimalizaci poškození zdravých buněk a snížení výskytu negativních účinků spojených s chemoterapií. Vzhledem k tomu, že spermatogonie, jakožto typ kmenových buněk, a rakovinné kmenové buňky sdílejí podobné buněčné mechanismy, včetně neomezené schopnosti sebeobnovy a diferenciaci do různých buněčných typů, představuje tento fakt závažné riziko pro mužskou plodnost. Je důležité brát tuto skutečnost v potaz při vývoji cílených terapeutických strategií a výběru léčby.

3. Chemoterapie

Chemoterapie už historicky tvoří základ léčby rakoviny. Prvním náznakem, že by chemoterapie, tedy využití chemických látek pro léčbu organismu (v užším slova smyslu protinádorovou léčbu), mohla být potenciální možnost, bylo náhodné pozorování jedinců vystavených biochemické zbraní yperit. Nastala u nich těžká leukopenie a výrazné vyčerpání kostní dřeně a lymfatických uzlin, což v přenesení na maligní lymfomy znamenalo jejich významné, ale bohužel jen dočasné potlačení (Krumbhaar a Krumbhaar 1919). Tento podnět však vedl k výzkumu a testování léků proti rakovině (DeVita a Chu 2008). Vznik nových protirakovinných léčiv není jednoduchý. Velmi důležitou vlastností při vývoji nových léků je specifčnost jejich účinku, která představuje inhibiční aktivitu proti danému cíli, přičemž má v zásadě málo mimo cílových účinků, a tedy i menší nespecifickou toxicitu. Podání takového léku neznamena okamžitou výhru, naopak může být následováno relapsy, které zapříčiňuje fakt, že každá základní charakteristická vlastnost je částečně regulována redundantními signálními cestami. Tedy inhibice jedné klíčové dráhy terapeutickým činidlem nemusí zcela vypnout danou vlastnost, což umožní některým rakovinným buňkám přežít se zbytkovou funkcí, dokud se ony nebo jejich potomci nepřizpůsobí selektivnímu tlaku vyvolaném aplikovanou terapií. Taková adaptace, kterou lze provést mutací, epigenetickým přeprogramováním, nebo remodelací stromálního mikroprostředí může vést k obnovení funkční schopnosti, růstu nádoru a klinické recidivě. Další problém může nastat u nasazení léků indukujících apoptózu. Může nastat opačná skutečnost, která vede k hyperaktivaci mitogenní signalizace rakovinných buněk, což jim umožní kompenzovat počáteční opotřebením vyvolané léky. Vývoj léků a léčebných protokolů těží ze začlenění poznání funkčně oddělených konceptů charakteristických vlastností a mnoha biochemických cest zapojených do podpory každé z nich. Proto je velmi podstatné znát molekulárně biologické souvislosti (Hanahan a Weinberg 2011). Toto poznání vede výzkum k vývoji nových chemoterapeutik, která se snaží minimalizovat dopad léčby na plodnost prostřednictvím selektivního působení na rakovinné buňky. Klíčovým mechanismem účinku mnoha chemoterapeutik je indukce poškození DNA, která vede k aktivaci buněčné smrti. Proti poškození DNA působí více opravných cest: oprava excize bází, oprava chybného párování, homologní a nehomologní rekombinace (Hoeijmakers 2001). Zvýšená exprese genů související s opravou nukleotidové excize koreluje s rezistencí na léky, například na bázi platiny. Pokud jsou tyto mechanismy aktivní, mohou být buňky odolnější k léčbě a mohou se snížit šance na úspěšné léčení nádoru, což může mít dopad na reprodukční schopnost muže po ukončení léčby. Vývoj

léčiv se tedy zaměřuje i na faktory rezistence, aby se zlepšila jejich účinnost (Amable 2016).

3.1. Druhy chemoterapie

V základní rovině existují tři hlavní možnosti léčby rakoviny, a to operace, chemoterapie, nebo radioterapie. Je nutná podrobná znalost těchto léčebných modalit pro výběr nejúčinnější a nejrychlejší varianty s minimálními škodlivými vedlejšími účinky (Vakalopoulos et al. 2015). Od tohoto faktu se odvíjí i výběr chemoterapie, která může kooperativně sloužit jako adjuvantní léčba (Achilli et al. 2021), nebo může být majoritní léčebnou cestou, případně podávána v kombinaci. Variabilita chemoreaktivity se vyskytuje nejen mezi pacienty s různými typy nádorů, ale také v rámci skupin pacientů s nádorem stejného typu (van Hagen et al. 2012). Jelikož základním rysem mezi třídami chemoterapeutik je, že mechanismus jejich primárního účinku ovlivňuje biologické procesy spojené s dělením buňky, buď indukcí poškození DNA, nebo přímou inhibicí mitotické progresse, tak se usuzovalo, že je-li klíčovým znakem rakoviny rychlé a nekontrolované buněčné dělení, tak je možné předpokládat, že rakovinné buňky budou citlivější na chemoterapii než buňky normální (Mitchison 2012). Ovšem vztah mezi rychlostí proliferace a chemosenzitivitou nebyl prokázán jako přímočarý (Chen et al. 2021). A dále tělo obsahuje i buňky, které se za fyziologických podmínek vyznačují vysokou mírou proliferace, jako například právě mužské zárodečné buňky.

Konvenční chemoterapeutika jsou rozdělena do několika tříd na základě jejich primárního mechanismu účinku. Zahrnují alkylační činidla a platinové analogy, které indukují meziřetězcové nebo intrařetězcové příčné vazby DNA, destabilizují DNA a způsobují zlomy DNA. Dále antimetabolity (např. methotrexát, cytarabin), které inhibují syntézu DNA, RNA nebo jejich složek. Další skupinu tvoří inhibitory topoizomeráz (např. etoposid, irinotecan, doxorubicin), také označovány jako DNA interkalační činidla, které blokují enzymy rozvolňující DNA. Tím indukují nebo stabilizují zlomy DNA řetězců. Mohou sem být i zařazeny mikrotubulární jedy (např. vinblastin), které působí na tubulin, a tím brání vzniku mitotického vřeténka a zastavují tak buněčné dělení. Tyto látky mají také známé sekundární mechanismy účinku, jako jsou účinky na mitochondriální biogenezi nebo produkci reaktivních forem kyslíku (ROS), což přispívá k jejich toxicitě (Tilsed et al. 2022; Allen et al. 2018). Právě nadměrná produkce ROS může být jednou z příčin negativního vlivu těchto chemoterapeutik na mužskou plodnost. Je známo, že reaktivní formy kyslíku narušují produkci spermií, jejich motilitu nebo integritu DNA. Zatímco nízké hladiny ROS hrají léčebnou roli v aktivaci intracelulárních drah odpovědných za

zrání spermií, kapacitaci, hyperaktivaci, akrozomální reakci a fúzi s vajíčkem, vysoké hladiny ROS mohou poškodit membrány spermií, což vede k jejich špatné pohyblivosti, předčasné kapacitaci a akrozomální reakci, abnormálnímu chování transportních a komunikačních iontových kanálů, změny v translokaci fosfatidylserinu, morfologické abnormality a zhoršenou schopnost fúze spermií a oocytů (Gosalvez et al. 2017). Stále ovšem zůstává těžké identifikovat riziko každé molekuly, jelikož jsou obvykle podávány v kombinaci (Allen et al. 2018). S ohledem na častou a někdy závažnou toxicitu mnoha chemoterapeutik zůstává naléhavá potřeba jasných prediktivních biomarkerů, které by mohly vést k klinické rozhodnutí (Tilsed et al. 2022).

3.2. Nežádoucí účinky

Chemoterapeutika obvykle vyvolávají vážné vedlejší účinky kvůli jejich nízkému poločasu rozpadu v krvi a rychlé distribuci ve zdravých tkáních a orgánech (Wei et al. 2021). Je jen několik scénářů, kdy chemoterapie vede k celkovému a trvalému vyléčení solidních metastatických karcinomů (Tandstad et al. 2014). Mužská neplodnost spojená s rakovinou je způsobena vedlejším účinkem agresivní onkologické léčby (Agarwal a Said 2004). Různorodost odpovědi a citlivost na chemoterapii řídí mechanismy na buněčné úrovni a složení nádorového mikroprostředí. U některých pacientů může chemoterapie způsobit poškození reprodukčních buněk nebo hormonálního systému, což má za následek snížení kvality spermií nebo dokonce trvalou neplodnost (Tilsed et al. 2022).

3.2.1. Znaky a způsoby ovlivnění plodnosti

Tkáň varlat je velmi citlivá na chemoterapii a radioterapii, protože obě tyto léčebné metody cílí na rychle se dělící buňky, které jsou hojně přítomné právě v testikulární tkáni (Delessard et al. 2020). Varlata mohou být ovlivněna léčbou v průběhu života ve všech fázích jejich vývoje (van Casteren et al. 2009). Neplodnost pozorovaná po expozici chemoterapii může být výsledkem jak přímého poškození zárodečných buněk, tak nepřímého poškození endokrinní a parakrinní kontroly somatických buněk (Stukenborg et al. 2018). Leydigovy buňky byly dlouho považovány za odolnější vůči chemoterapii než zárodečné a Sertoliho buňky. U pacientů, kteří dlouhodobě přežili rakovinu, bylo však prokázáno, že funkce Leydigových buněk může být poškozena, což je spojeno se zvýšením hladiny LH a nízkou nebo normální hladinou testosteronu (Gerl et al. 2001). Porucha Sertoliho buněk byla pozorována u dospělých myši po podání cyklofosfamidu (Cao et al. 2017). Další důkazy o vlivu chemoterapie na plodnost byly uvedeny ve studii, která udává, že chemoterapeutický režim BEP vyvolává oxidační stres, hyperplazii Leydigových buněk

a inhibici transkripce genů kódujících steroidogenní enzymy (Al-Bader a Kilarkaje 2015). Jak už bylo uvedeno, na cytogenotoxický účinek chemoterapeutik (tj. oxidační stres, poškození DNA, apoptózu) jsou citlivé především spermatogonie a spermatocyty. Citlivost na agens se zvyšuje zejména během procesu diferenciací (Trottmann et al. 2007). Mnoho chemoterapeutických sloučenin indukuje zvýšený oxidační stres v testikulární tkáni spojený s downregulací antioxidačních enzymů, které jsou nezbytné k nadměrné prevenci tvorby ROS. Nárůst oxidačního stresu může mít za následek poškození DNA v zárodečných buňkách, což může vést až k jejich apoptóze (Yeh et al. 2007). Tato apoptóza může být zodpovědná za vznik oligozoospermie nebo azoospermie, ale také zabraňuje produkci spermií s poškozeným DNA a jejich potenciálnímu přenosu na potomstvo (Cai et al. 1997). Kromě změny genetické exprese mohou některá chemoterapeutika také interferovat s procesem replikace DNA nebo segregací chromozomů. To je případ etoposidu, inhibitoru topoizomerázy II., který zabraňuje znovuspojení dvouřetězců DNA po replikaci, což vede k chromozomové fragmentaci. Také inhibuje normální segregaci chromozomů, což vede k aneuploidii (Marchetti et al. 2001). U pacientů, kteří přežili rakovinu, může špatná kvalita spermií přetrvávat i několik let po dokončení léčby, což naznačuje, že účinky chemoterapie na zárodečné buňky mají dlouhodobý dopad (O'Flaherty et al. 2010). Mutace vyskytující se u kmenových buněk způsobují trvalé poškození spermatogeneze ve srovnání s mutacemi v pozdějším stadiu vývoje, které vedou jen k narušení spermatogeneze (Meistrich 1993). Spermatogeneze se u většiny mužů obnoví do pěti let (Lampe et al. 1997). V případě, že nádor postihuje právě testikulární tkáň, je vliv chemoterapie na plodnost daleko závažnější. Samotné testikulární tumory zhoršují plodnost narušením spermatogeneze destrukcí okolní tkáně, lokální sekrecí lidského choriového gonadotropinu a dalších parakrinních faktorů, zvýšením intrastromální teploty a změnami v místním přítoku krve (Vakalopoulos et al. 2015). Tento účinek může být ještě více podpořen vlivem chemoterapeutické léčby, což může vést k dočasné nebo trvalé neplodnosti.

Dětství bylo považováno za klidové období vývoje varlat, které chrání varlata před nepříznivými účinky chemoterapie (van Casteren et al. 2009). Je k dispozici velmi málo údajů o výsledku expozice chemoterapii během dětství na funkci varlat a většina závěrů je odvozena ze studií na dospělých (Allen et al. 2018). Avšak bylo dokázáno, že prepubertální varle je takzvaně tiše aktivní. Probíhá zvětšování jeho objemu, proliferace nezralých Sertoliho buněk a zvyšuje se počet Leydigových buněk (Chemes 2001). Tyto skutečnosti

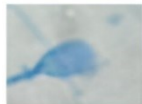
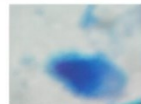
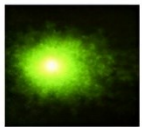
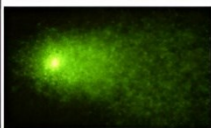
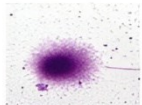
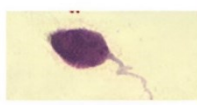


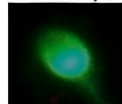

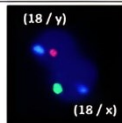
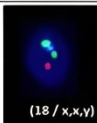
ukazují na nutnost zaměřit výzkum i na děti a dospívající a poskytnout více dat a informací pro tuto skupinu pacientů.

Dalším negativním účinkem ovlivňující reprodukční schopnost pacienta, který není však tolik rozšířen, je vznik sexuálních dysfunkcí. Jedná se zejména o erektilní dysfunkce, problémy s orgasmem (Rosendal et al. 2008) nebo hypogonadismus. Ten je častěji označován jako negativní faktor radioterapie, ale mohou ho zapříčinit i inhibitory imunitního kontrolního bodu, pokud se dostanou do mozku a způsobí zde zánět hypofýzy. Tím se sníží sekrece gonadotropinu a následně tedy i produkce testosteronu. To indukuje hypogonadotropní hypogonadismus, který poté vede k sexuální dysfunkci a narušení spermatogeneze (Özdemir 2021).

3.2.2. Nástroje pro detekci neplodnosti

Stanovení mužské fertility je běžně založeno na analýze spermatu, známé jako spermioqram. Tento test hodnotí několik klíčových parametrů spermatu, včetně koncentrace, viability, motility, pH, morfologie spermií a objemu ejakulátu nicméně ne vždy dokáže jasně odlišit fertilní od neplodné populace a v mnoha případech neodhalí žádnou abnormalitu ačkoli muž trpí problémy s plodností (Nallella et al. 2006; Vásquez et al. 2016). Z tohoto důvodu se v posledních letech rozšiřuje portfolio dalších možných testů kvality spermií. Do popředí se dostává např. studium určení míry poškození jaderné DNA (Seli et al. 2004). Poškození jaderné DNA ve spermii může mít negativní dopad na vývoj plodu a na zdraví potomstva (Virro et al. 2004). V definici poškození DNA spermií jsou zahrnuty různé změny, včetně defektně sbaleného chromatinu, apoptózy, oxidačního stresu, fragmentace DNA, genových mutací a aneuploidie (Nijs et al. 2011; Gorczyca et al. 1993; Gosalvez et al. 2017). V důsledku toho byla navržena řada metod pro hodnocení kvality a funkce spermií, stejně jako integrity DNA, jako je protaminace a balení DNA, fragmentace DNA a aneuploidie chromozomů (Shamsi et al. 2011). Užitečnost těchto metod při hodnocení mužské neplodnosti a jako prognostických metod je stále diskutabilní, částečně, jelikož u některých z těchto metod nebylo dosaženo standardizace, protože normální hodnoty jsou stále předmětem zkoumání, a protože nebyla ještě provedena prospektivní studie. Tyto techniky ovšem mohou být použity jako doplňkové testy a mohou poskytovat další informace o funkci spermií a jejich schopnosti oplození (Kumar et al. 2012). Na základě uvedených skutečností lze předpokládat, že tyto testy budou zvláště relevantní pro muže po absolvování chemoterapie, vzhledem k vyššímu riziku poškození DNA této skupiny pacientů. Jedná se například o metody využití anilinové nebo toluidinové modře pro vyvolání barevných chemických reakcí na základě afinity k daným

molekulárním kompartmentům. Pod světelným mikroskopem, nebo i za využití cytometru, poté probíhá vyhodnocení barevné diferenciacce spermií (Dadoune et al. 1988; Erenpreisa et al. 2003). Integritu DNA spermatu lze hodnotit různými technikami, například testem struktury chromatinu spermatu (SCSA), testem disperze chromatinu ve spermatu (HALO) nebo testem COMET (viz Obr.2) (Evenson 2013; Fernández et al. 2005; Singh et al. 1988).

Test (hodnocení jádra)	Normální	Patologické
ANILINOVÁ MODŘ (hodnocení balení histonů DNA)		
COMET TEST (integrita DNA hodnocení DS a SS zlomů)		
HALO TEST (hodnocení chromatinu a integrity DNA)		
TUNEL (integrita DNA hodnocení DS a SS zlomů)		
AKRIDINOVÁ ORANŽ (hodnocení chromatinu- kvantifikace nedenaturované a denaturované DNA)	Dvouvláknový (DS) 	Jednovláknový (SS) 
FISH (hodnocení aneuploidie)		

Obrázek 2 – Reprezentativní snímky získané různými metodami používanými k hodnocení jádra spermií

Převzato a upraveno: (Pizzol et al. 2014)

Hluboký vhled do funkce jednotlivých proteinů souvisejících s procesem oplodnění poskytuje lepší pochopení fertilizačního potenciálu spermií. Byly identifikovány proteiny, které se zapojují do reprodukčního systému a vývojových funkcí, které byly dysregulovány u pacientů s asthenozoospermickou rakovinou varlat. Byl detekován chaperoninový protein CCT3 zapojený do vazby spermie-vajíčko a spermie-zona pellucida (Skerget et al. 2015). Dále to jsou proteiny rodiny SERPINA5, které inhibují vazbu a penetraci spermií (España et al. 2007). Proteomické nálezy ukazují, že i když normozoospermičtí pacienti s karcinomem varlat vykazují normální parametry spermatu, spermie spojené s procesem oplodnění mohou být u těchto mužů dysregulovány. Chemoterapie může tedy přímo, ale i nepřímou ovlivnit mechanismy spermatogeneze. I když se parametry spermatu nachází v normálních mezích, může docházet k narušení spermie na úrovni proteomu, což může

negativně ovlivnit plodnost. V souvislosti s chemoterapií a proteomem spermií byla provedena studie, která identifikovala dva potencionální proteinové biomarkery pro mitochondriální dysfunkci a zrání spermií u pacientů s rakovinou varlat, konkrétně mitochondriální protein NDUFS1 a exosomální markerový protein CD63. Dále byla navržena další analýza proteinů CCT3 a SERPINA5, které jsou spojeny s plodností, s cílem ověřit jejich užitečnost jako klinických biomarkerů u těchto mužů (Panner Selvam et al. 2019). Tato zjištění podtrhují potřebu sledovat a porozumět účinkům chemoterapie na proteom spermií a hledat strategie pro zachování mužské plodnosti v důsledku léčby rakoviny.

4. Ochrana plodnosti

Vysoké přežití rakoviny díky včasné diagnostice a vyspělé léčbě vytváří velký vykřičník nad zlepšením kvality života pacientů po prodělané rakovině. Důležitost řešení otázky zachování mužské plodnosti v průběhu diagnostiky a léčby rakoviny byla zdůrazněna organizacemi, jako je American Society for Reproductive Medicine (ASRM) a American Society of Clinical Oncology (ASCO), které vydaly formální doporučení vyzývající klinické lékaře, aby informovali pacienty o potencionálním dopadu léčby rakoviny na plodnost a nabídli řešení pro zachování plodnosti (Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2005; Lee et al. 2006). Ve studii hodnotící kvalitu spermií u pacientů s rakovinou před a po chemoterapii bylo popsáno snížení koncentrace spermií, jejich motility a objemu spermatu a zvýšení abnormálních forem (Bahadur et al. 2005). Nedávná studie prokázala ve srovnání se zdravou populací sníženou pravděpodobnost, že se stanou otcem, což záviselo na lokalizaci nádoru, věku a zpoždění diagnózy (Tang et al. 2016). Otázka zachování kvality života a možnost mít svého potomka nezahrnuje jen biologický aspekt, ale zasahuje i do sociální roviny. Ve společnosti jsou stále představy o maskulinitě spojeny s určitými postoji, normami a životním stylem. Už historicky byly s mužností spojeny tendence zanedbávat emoce a tělesné symptomy. Vliv genderových vzorců a normativních konfigurací maskulinity může být skutečně škodlivý pro zdraví mužů a jejich kvalitu života. Muži se ovšem nedají popsat jako homogenní skupina, a tak odlišnosti této problematiky záleží například na jejich materiálním zázemí, věku nebo sociální třídě. Aspekt zachování plodnosti se propisuje i do partnerského života mužů, což je další důležitá rovina jak z hlediska léčby, jelikož je dokázán pozitivní vliv podpory partnera v průběhu terapie, tak z hlediska rekonvalescence a spokojenosti v životě (Andreasson et al. 2023). Ochrana plodnosti u mužů s karcinomem varlat je zvláště důležitá, jelikož právě u těchto pacientů je riziko poškození spermatogeneze a reprodukčních orgánů nejvyšší. Karcinom varlat je jedním z nejlépe léčitelných nádorů s až 95% přežitím (Ostrowski a Walsh 2015). Většina mužů je diagnostikována s neplodností ještě před zahájením léčby (Fosså et al. 1997). Studie uvádí, že 52 % mužů s rakovinou varlat a 40 % mužů s jinými rakovinami mělo v době diagnózy snížený celkový počet spermií. Klíčové je tedy analyzovat a definovat plodnost pacientů před léčbou (Chapman et al. 1979). Tato data poskytnou nejen konkrétní informace pro daného jedince s přesnější nabídkou možnosti ochrany plodnosti, ale zároveň se díky těmto informacímlepší i chápání dopadu rakoviny na plodnost, a získají se tak další podklady pro zkoumání budoucího potenciálu rozmnožování u těchto mužů.

4.1. Kryoprezervace spermatu

Použití kryoprezervace spermatu před léčbou rakoviny je bezpečnou a úspěšnou metodou pro zachování mužské plodnosti s mírou úspěšnosti blížící se 90 % (Menon et al. 2009). Postup zahrnuje odběr v ideálním případě alespoň tří vzorků spermatu s abstinencí alespoň 48 hodin mezi odběry a následnou kryoprezervací spermatu, i když častokrát musí být odebrán více než jeden vzorek ve stejný den, aby se předešlo zpoždění onkologické léčby (Tournaye et al. 2014). V případě selhání ejakulace nebo v případě, že v ejakulátu nejsou nalezeny žádné spermie, lze spermie získat alternativními metodami jako je extrakce testikulárních spermií, elektroejakulace, nebo z postmasturbačního vzorku moči (Lee et al. 2006). Poté je nutné aplikovat některou z metod asistované reprodukce jako je IVF, nebo intracytoplazmatická injekce spermie (ICSI). Ačkoli metoda IVF a ICSI jsou obě techniky asistované reprodukce, liší se ve způsobu, jakým se oplodnění provádí. IVF zahrnuje oplodnění mimo tělo ženy v Petriho misce. Spermie jsou umístěny vedle vajíčka a oplodnění proběhne přirozeně (Donnez a Dolmans 2013). Při metodě ICSI je spermie přímo injikována do vajíčka pomocí tenké jehly (viz Obr.3). ICSI je výhodná v tom, že umožňuje reprodukci také v případě, že sperma má velmi špatnou kvalitu nebo obsahuje pouze několik spermií (Tournaye et al. 2014). Důrazně se doporučuje odebrat spermie před zahájením léčby, protože kvalita vzorku a integrita DNA



Obrázek 3 – Metoda ICSI: injekce spermií do oocytu

Převzato a upraveno: (Merchant et al. 2011)

spermií může být narušena i po jediném ošetření chemoterapeutiky (Lass et al. 1998). Je zřejmé, že tato technika není vhodná pro prepubertální pacienty kvůli jejich pohlavní nezralosti. Možnosti těchto pacientů jsou značně omezené (Huleihel a Lunenfeld 2020). Jako vhodné varianty se zdají být kryoprezervace testikulární tkáně, xenografing varlat nebo izolace spermatogonií. Jedná se o metody, kdy dochází k zamrazení testikulární tkáně nebo zárodečných buněk a jejich reimplantaci po léčbě rakoviny. Tyto metody jsou ovšem stále považovány za experimentální a nebyly dosud testovány na lidech (Lee et al. 2006).

4.2. Volba cytostatik

Rozhodnutí o výběru cytostatik je klíčovým faktorem při léčbě rakoviny, a má významný dopad na mužskou plodnost. Mnoho cytostatik může poškodit spermatogenezi, což může

vést k dočasné nebo trvalé neplodnosti. U lidí je obtížné přesně vyhodnotit toxicitu chemoterapeutických látek, protože metody léčby rakoviny se často kombinují. Například je podáváno dohromady více chemoterapeutik, nebo je častá kombinace chemoterapie s radioterapií. Z toho plyne velká důležitost studií na zvířecích modelech, aby bylo možné definovat mechanismus, který se podílí na gonadotoxicitě léčiva a posoudit účinky jejich podávání samostatně nebo v kombinaci na nezralá a zralá varlata (Delessard et al. 2020). Ve většině případů obsahuje režim léčby dětí a dospívajících alkylační látky (například chlorambucil, cyklofosfamid, busulfan), které jsou spojeny s vysokým rizikem neplodnosti (Green et al. 2014). Bylo uvedeno, že azoospermie se zhoršuje při celkové dávce alkylačních látek s cyklofosfamidem 19 g/m^2 pro jednu látku a $7,5 \text{ g/m}^2$ nebo více pro kombinaci látek (Meistrich et al. 1992). Ifosfamid zvyšuje poškození při celkových dávkách 42 g/m^2 a vyšších. Cisplatina zvyšuje riziko azoospermie v dávkách $>400 \text{ mg/m}^2$ (Trottmann et al. 2007). Většina molekul chemoterapie byla klasifikována podle jejich gonadotoxického rizika, to je podle stupně poruchy spermatogeneze, v rozsahu od oligozoospermie po neobstrukční azoospermii po uzdravení (Lee et al. 2006). Několik látek je spojeno s nízkým nebo žádným rizikem neplodnosti, a to methotrexát, fluorouracil, bleomycin a daktinomycin (Lee et al. 2006). Stadium nemoci definuje výběr chemoterapie. Nejběžnější chemoterapie pro metastatické nádory ze zárodečných buněk jsou bleomycin, etoposid a cisplatina (Petersen et al. 1998). Volba cytostatik je tak důležitým rozhodnutím v léčbě rakoviny, které má zásadní dopad na vedlejší účinky a plodnost mužů. Z toho vyplývá nutnost pečlivého zvážení potenciálních rizik a výhod jednotlivých léčebných možností a případného zohlednění ochrany reprodukční schopnosti pacientů.

4.3. Způsob podávání, dávkování chemoterapie

Různé metody aplikace a dávkování léčiv mohou mít odlišný dopad na reprodukční systém mužů. Porozumění těmto vlivům je klíčové pro efektivní léčbu a minimalizaci vedlejších účinků na reprodukční zdraví. Vzhledem k tomu, že chemoterapie je typicky podávána systémově, je nezbytné, aby léčivo dosáhlo nádoru v dostatečné koncentraci (Hansen et al. 2013). Snížení dávky a alternativní režimy jsou zkoumány v klinických studiích s cílem snížit toxicitu související s léčivem, aniž by došlo ke snížení rychlosti vyléčení (Feldman et al. 2008). Klinické rysy prognostické hodnoty před léčbou, zahrnující patologické rysy nádoru, primárního ložiska, metastatických míst a hladin sérových nádorových markerů, byly použity pro stratifikaci chemoterapeutických režimů. Přibližně 90 % pacientů s dobrou prognózou dosáhne kompletní remise čtyřmi cykly etoposidu a cisplatiny, nebo třemi cykly cisplatiny, etoposidu a bleomycinu (Feldman et al. 2008). Chemoterapeutické

režimy mohou být účinné při léčbě rakoviny, ale léky obsažené v těchto režimech mohou negativně ovlivnit mužskou plodnost a je důležité zohlednit tento fakt při výběru léčby. Ve srovnání s monochemoterapií mohou kombinované režimy zacílit různé terapeutické dráhy v rakovinné buňce a snížit tak dávky léků, aby se snížily vedlejší účinky, včetně těch ovlivňujících mužskou plodnost (Wei et al. 2021).

Velmi nadějným mechanismem pro zlepšení podávání a účinku chemoterapie se jeví nanotechnologie a nanomedicína. Chemoterapie indukuje multidrug rezistenci, která označuje fenotyp rezistence, a rakovinné buňky se stávají rezistentní vůči různým lékům s různou strukturou a molekulární podobností (Qin et al. 2018). V posledních letech se zkoumá podání léků na bázi nanopřenašečů (NDDS), například skrz polymerní micely, lipozomy a organické nebo anorganické nanočástice, které mají speciální fyzikální a chemické vlastnosti (Majumder et al. 2019). Rozdíl oproti nádorovým lékům bez nosičů je, že NDDS mohou dostat vyšší dávky léků do nádorové tkáně prostřednictvím efektu zvýšení permeability a retence a snížit účinky vysokých dávek (Zhang et al. 2020). Další výhodou by mohla být funkcionalizace NDDS, například úprava povrchu nanonosičů cílenými ligandy, tzn. že více se jich uchyťí na nádor (Rawal a Patel 2019), nebo poskytnutím NDDS větší citlivost na uvolnění léku (in vivo a in vitro stimulace) (Huang et al. 2015). NDDS mohou zlepšit rozpustnost chemoterapeutik, ale mohou také snížit toxicitu systémové chemoterapie pro normální tkáň (Wei et al. 2021). Extracelulární matrix (Zhang et al. 2019) a vysoký tlak intersticiální tekutiny v nádoru tvoří primární bariéru, která brání nanomedicínám proniknout do nádorové tkáně (Stapleton et al. 2015). Pro získání uspokojivého terapeutického výsledku je ideálním přístupem zajistit, aby vhodná terapeutická činidla s optimální koncentrací byla umístěna na správném místě. To by mohlo zajistit cílené dodávání chemoterapie do subcelulárních organel, což je nejvhodnější strategie k úplné eradikaci nádorů a prevenci recidivy, invaze a metastáz nádoru. NDDS by bylo nejefektivnější zacílit na mitochondrie a jádra (Guo et al. 2020). Potenciál nanopřenašečů se jeví jako velmi perspektivní směr výzkumu, který nabízí naději pro minimalizaci negativních dopadů chemoterapie na reprodukční zdraví mužů.

4.4. Obnova plodnosti po léčbě

Obnovení spermatogeneze po různých typech terapií je nepředvídatelné a studie spermatogeneze u pacientů, kteří dlouhodobě přežili rakovinu, poskytly důkazy o přetrvávající azoospermii nebo těžké oligozoospermii až ve 24 % případů (López Andreu et al. 2000). U velkého množství mužů se reprodukční funkce nakonec obnoví, nicméně zatím neexistuje žádný klinický test, který by mohl hodnotit kvalitu spermií s vysokou

mírou citlivosti (Baskaran et al. 2021). Ačkoli někteří pacienti funkčně obnoví plodnost, jiní trpí sníženou koncentrací spermií v ejakulátu a azoospermií (Yumura et al. 2022). Zotavení se může u jednotlivých jedinců lišit v závislosti na stádiu vývoje onemocnění a terapeutickém režimu (zejména u dávek alkylačních činidel) (Paoli et al. 2016). Další faktory určující dobu obnovy je samotný druh rakoviny, věk pacienta a stav fertility před léčbou. U pacientů s rakovinou varlat byla jeden rok po orchiektomii a chemoterapii na bázi platiny pozorována normozoospermie u 64 % všech pacientů a po 3-5 letech bylo zjištěno uzdravení u 80 %. I po 5 letech bylo možné vidět normalizaci (Trottmann et al. 2007). Analýza ukázala, že pacienti s testikulárním karcinomem měli nejnižší koncentrace spermií před léčbou, ale také nejnižší výskyt azoospermie po léčbě ve srovnání s jinými nádorovými druhy (Bahadur et al. 2005). Jedním z důvodů může být skutečnost, že u pacientů s testikulárním karcinomem může být detekce nádoru a následná léčba prováděna v ranějších stádiích než u jiných typů rakoviny. Dalšími důvody může být například lepší reakce testikulárních karcinomů na léčbu a lepší regenerace po léčbě než u jiných typů nádorů, nebo fakt, že testikulární karcinom obvykle postihuje mladší muže, kteří mají obecně vyšší míru plodnosti a regenerační schopnost spermií (Feldman et al. 2008; Ostrowski a Walsh 2015). Zatímco spermatogeneze se může po ukončení chemoterapie obnovit, u většiny pacientů, kteří přežili rakovinu, byla ve spermatu zjištěna přetrvávající jaderná poškození. Byla sledována významná úroveň poškození DNA spermií a chromatinu, a to i po 24měsíčním období od konce léčby (O'Flaherty et al. 2010). Nukleární abnormality pozorované v ejakulovaných spermiích se zřejmě lišily podle stadia diferenciací (spermatogonie, spermatocyty nebo spermatidy) v době expozice chemoterapii a použitého protirakovinného činidla (Meistrich 2020). Léčba rakoviny vyvolala segregaci chromozomů, což vedlo k produkci spermií s numerickými chromozomálními abnormalitami (Burrello et al. 2011). Většina studií využívající analýzu FISH uvádí disomii sexuálních chromozomů u pacientů po režimu CHOP/MOPP-ABV, ABVD nebo BEP (Martinez et al. 2017).

V případě podání léků s úzkým cytotoxickým účinkem se počet spermií opět normalizuje po 12 týdnech po ukončení chemoterapie (Meistrich 2013), po léčbě ABVD trvá obnova až 1 rok, po léčbě CHOP/MOPP-ABV se čeká 2 roky pro regeneraci spermií na úroveň před léčbou (Martinez et al. 2017).

Závěr

Chemoterapie představuje významný léčebný přístup v boji proti nádorovým onemocněním, avšak její vliv na mužskou plodnost je nesporný. Neplodnost vyvolaná chemoterapií může být důsledkem jak přímého poškození germinálních buněk, tak nepřímého poškození endokrinního a parakrinního regulátoru somatických buněk. Výzkumy prokázaly, že chemoterapie má vliv na funkci Sertolihových buněk, ale i Leydigových buněk. Oba tyto buněčné typy zastávají důležitou roli v procesu spermatogeneze, od poskytování fyzické podpory až po produkci regulačních hormonů. Spermatogeneze je zásadní děj pro mužskou reprodukci. Zahrnuje několik klíčových fází, které mohou být chemoterapií negativně ovlivněny. Týká se to především buněk v aktivní fázi diferenciaci, jako jsou spermatogonie a spermatocyty. Tato stadia jsou primárně ovlivněna chemoterapeutickými látkami, které cílí na buněčný cyklus a replikaci DNA. Cytostatika interferují s DNA spermií a způsobují tak poškození nebo zástavu jejich vývoje. Bylo dokázáno, že buňky zasažené chemoterapií mají sníženou integritu DNA a častěji se u nich vyskytuje fragmentace DNA. Tyto skutečnosti vedou často k výskytu aneuploidií v buněčném genomu. Pokud buněčné ochranné mechanismy zaznamenají poškození v průběhu vývoje, aktivují apoptické dráhy, aby předešly šíření vady na potomstvo. Ovšem zvýšená apoptóza při spermatogenezi může vést k oligozoospermii nebo azoospermii. V rámci zachování kvality života pacientů je důležitá osvěta o ochraně jejich plodnosti před zahájením léčby. V současnosti je nejvyužívanější metodou kryoprezervace spermatu, která ovšem není přístupná pro všechny. Mladí pacienti s ještě nevyvinutými pohlavními buňkami mají možnosti zachování plodnosti značně omezené. Proto je velmi důležité soustředit výzkum na vliv chemoterapeutik na děti a dospívající, zkoumat možnosti snížení dávek cytostatik, nebo přesného vlivu konkrétních látek na testikulární tkáň. Jako slibné cíle výzkumu se zdají být hypotéza o rakovinných kmenových buňkách a vývoj nanotechnologií pro zmírnění cytotoxicity a zvýšení účinku léčby.

Seznam použité literatury

- AGARWAL, Ashok, Ala'a FARKOUH, Neel PAREKH, Armand ZINI, Mohamed ARAFA, Hussein KANDIL, Nick TADROS, Gian Maria Busetto, Rafael AMBAR, Sijo PAREKATTIL, Florence BOITRELLE, Hassan SALLAM, Sunil JINDAL, Edmund KO, Mara SIMOPOULOU, Hyun Jun PARK, Mohammad Ali SADIGHI, Ramadan SALEH, Jonathan RAMSAY, Marlon MARTINEZ, Haitham ELBARDISI, Juan ALVAREZ, Giovanni COLPI, Jaime GOSALVEZ, Donald EVENSON a Rupin SHAH, 2022. Sperm DNA fragmentation: A critical assessment of clinical practice guidelines. *The World Journal of Men's Health* [online]. **40**(1), 30–37. ISSN 2287-4208.
- AGARWAL, Ashok a Tamer M. SAID, 2004. Implications of systemic malignancies on human fertility. *Reproductive Biomedicine Online* [online]. **9**(6), 673–679. ISSN 1472-6483.
- ACHILLI, Pietro, Jacopo CRIPPA, Fabian GRASS, Kellie L. MATHIS, Anne-Lise D. D'ANGELO, Mohamed A. ABD EL AZIZ, Courtney N. DAY, William S. HARMSSEN a David W. LARSON, 2021. Survival impact of adjuvant chemotherapy in patients with stage IIA colon cancer: Analysis of the National Cancer Database. *International Journal of Cancer* [online]. **148**(1), 161–169. ISSN 1097-0215.
- AITKEN, R. J., E. GORDON, D. HARKISS, J. P. TWIGG, P. MILNE, Z. JENNINGS a D. S. IRVINE, 1998. Relative impact of oxidative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa. *Biology of Reproduction* [online]. **59**(5), 1037–1046. ISSN 0006-3363.
- AL-BADER, Maie a Narayana KILARKAJE, 2015. Effects of bleomycin, etoposide and cisplatin treatment on Leydig cell structure and transcription of steroidogenic enzymes in rat testis. *European Journal of Pharmacology* [online]. **747**, 150–159. ISSN 1879-0712.
- ALLEN, Caroline M, Federica LOPES, Rod T MITCHELL a Norah SPEARS, 2018. How does chemotherapy treatment damage the prepubertal testis? *Reproduction (Cambridge, England)* [online]. **156**(6), R209–R233 [vid. 2024-03-12]. ISSN 1470-1626.
- AMABLE, Lauren, 2016. Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine. *Pharmacological Research* [online]. **106**, 27–36. ISSN 1096-1186.
- ANDREASSON, Jesper, Thomas JOHANSSON a Carina DANEMALM-JÄGERVALL, 2023. Men's Achilles' heel: prostate cancer and the reconstruction of masculinity. *Culture, Health & Sexuality* [online]. **25**(12), 1675–1689. ISSN 1464-5351.
- ARTANDI, Steven E. a Ronald A. DEPINHO, 2010. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis* [online]. **31**(1), 9–18 [vid. 2024-02-18]. ISSN 0143-3334.
- AZAM, Faisal, Shaveta MEHTA a Adrian L. HARRIS, 2010. Mechanisms of resistance to antiangiogenesis therapy. *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)* [online]. **46**(8), 1323–1332. ISSN 1879-0852.
- BAHADUR, G., O. OZTURK, A. MUNEER, R. WAFI, A. ASHRAF, N. JAMAN, S. PATEL, A. W. OYEDE a D. J. RALPH, 2005. Semen quality before and after gonadotoxic treatment. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. **20**(3), 774–781. ISSN 0268-1161.
- BAKER, Julie A., Germaine M. BUCK, John E. VENA a Kirsten B. MOYSICH, 2005. Fertility patterns prior to testicular cancer diagnosis. *Cancer causes & control: CCC* [online]. **16**(3), 295–299. ISSN 0957-5243.
- BALHORN, R., L. BREWER a M. CORZETT, 2000. DNA condensation by protamine and arginine-rich peptides: analysis of toroid stability using single DNA molecules.

Molecular Reproduction and Development [online]. **56**(2 Suppl), 230–234. ISSN 1040-452X.

BAR-SHIRA MAYMON, Batia, Leah YOGEV, Alexander MARKS, Ron HAUSER, Amnon BOTCHAN a Haim YAVETZ, 2004. Sertoli cell inactivation by cytotoxic damage to the human testis after cancer chemotherapy. *Fertility and Sterility* [online]. **81**(5), 1391–1394. ISSN 0015-0282.

BASKARAN, Saradha, Renata FINELLI, Ashok AGARWAL a Ralf HENKEL, 2021. Diagnostic value of routine semen analysis in clinical andrology. *Andrologia* [online]. **53**(2), e13614. ISSN 1439-0272.

BENEDICT, Catherine, Elyse SHUK a Jennifer S. FORD, 2016. Fertility issues in adolescent and young adult cancer survivors. *Journal of Adolescent and Young Adult Oncology* [online]. **5**(1), 48–57 [vid. 2024-03-12]. ISSN 2156-5333.

BERDASCO, María a Manel ESTELLER, 2010. Aberrant epigenetic landscape in cancer: how cellular identity goes awry. *Developmental Cell* [online]. **19**(5), 698–711. ISSN 1878-1551.

BIEBER, Adrienne M., Ludovic MARCON, Barbara F. HALES a Bernard ROBAIRE, 2006. Effects of chemotherapeutic agents for testicular cancer on the male rat reproductive system, spermatozoa, and fertility. *Journal of Andrology* [online]. **27**(2), 189–200. ISSN 0196-3635.

BIGNOLD, Leon P., 2006. Alkylating agents and DNA polymerases. *Anticancer Research*. **26**(2B), 1327–1336. ISSN 0250-7005.

BREWER, L. R., M. CORZETT a R. BALHORN, 1999. Protamine-induced condensation and decondensation of the same DNA molecule. *Science (New York, N.Y.)* [online]. **286**(5437), 120–123. ISSN 0036-8075.

BURKHART, Deborah L. a Julien SAGE, 2008. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nature Reviews. Cancer* [online]. **8**(9), 671–682. ISSN 1474-1768.

BURRELLO, N., E. VICARI, S. LA VIGNERA, G. ROMEO, C. CAMPAGNA, E. MAGRO, D. GIUFFRIDA, R. D'AGATA a A. E. CALOGERO, 2011. Effects of anti-neoplastic treatment on sperm aneuploidy rate in patients with testicular tumor: a longitudinal study. *Journal of Endocrinological Investigation* [online]. **34**(6), e121-125. ISSN 1720-8386.

CAI, Lu, Barbara F. HALES a Bernard ROBAIRE, 1997. Induction of apoptosis in the germ cells of adult male rats after exposure to cyclophosphamide1. *Biology of Reproduction* [online]. **56**(6), 1490–1497 [vid. 2024-04-20]. ISSN 0006-3363.

CAO, Yuanchao, Xinsheng WANG, Shenqian LI, Hongqiang WANG, Lei YU a Peitao WANG, 2017. The effects of l-carnitine against cyclophosphamide-induced injuries in mouse testis. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* [online]. **120**(2), 152–158. ISSN 1742-7843.

CODRINGTON, Alexis M., Barbara F. HALES a Bernard ROBAIRE, 2004. Spermiogenic germ cell phase-specific DNA damage following cyclophosphamide exposure. *Journal of Andrology* [online]. **25**(3), 354–362. ISSN 0196-3635.

DADOUNE, J. P., M. J. MAYAUX a M. L. GUIHARD-MOSCATO, 1988. Correlation between defects in chromatin condensation of human spermatozoa stained by aniline blue and semen characteristics. *Andrologia*. **20**(3), 211–217. ISSN 0303-4569.

DAVIES, MA a Y SAMUELS, 2010. Analysis of the genome to personalize therapy for melanoma. *Oncogene* [online]. **29**(41), 5545–5555 [vid. 2024-02-13]. ISSN 0950-9232.

DELBES, Géraldine, Barbara F. HALES a Bernard ROBAIRE, 2007. Effects of the chemotherapy cocktail used to treat testicular cancer on sperm chromatin integrity. *Journal of Andrology* [online]. **28**(2), 241–249; discussion 250–251. ISSN 0196-3635.

DELESSARD, Marion, Justine SAULNIER, Aurélie RIVES, Ludovic DUMONT, Christine RONDANINO a Nathalie RIVES, 2020. Exposure to chemotherapy during childhood or adulthood and consequences on spermatogenesis and male fertility. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **21**(4), 1454. ISSN 1422-0067.

DEVITA, Vincent T. a Edward CHU, 2008. A history of cancer chemotherapy. *Cancer Research* [online]. **68**(21), 8643–8653. ISSN 1538-7445.

DISILVESTRO, Jessica B., Marcie PARKER a Katherine MILLER, 2023. Germline vs. somatic genetic testing: Their increasing use and application. *Rhode Island Medical Journal* (2013). **106**(5), 24–28. ISSN 2327-2228.

DOMEN, J. a I. L. WEISSMAN, 2000. Hematopoietic stem cells need two signals to prevent apoptosis; BCL-2 can provide one of these, Kitl/c-Kit signaling the other. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. **192**(12), 1707–1718. ISSN 0022-1007.

DONNEZ, Jacques a Marie-Madeleine DOLMANS, 2013. Fertility preservation in women. *Nature Reviews. Endocrinology* [online]. **9**(12), 735–749. ISSN 1759-5037.

DREWINKO, B., M. PATCHEN, L. Y. YANG a B. BARLOGIE, 1981. Differential killing efficacy of twenty antitumor drugs on proliferating and nonproliferating human tumor cells. *Cancer Research*. **41**(6), 2328–2333. ISSN 0008-5472.

EGEBLAD, Mikala, Andrew J. EWALD, Hanne A. ASKAUTRUD, Morgan L. TRUITT, Bryan E. WELM, Emma BAINBRIDGE, George PEETERS, Matthew F. KRUMMEL a Zena WERB, 2008. Visualizing stromal cell dynamics in different tumor microenvironments by spinning disk confocal microscopy. *Disease Models & Mechanisms* [online]. **1**(2–3), 155–167; discussion 165. ISSN 1754-8411.

ERENPREISA, Jekaterina, Juris ERENPREISS, Talivaldis FREIVALDS, Maija SLAIDINA, Rasma KRAMPE, Jelena BUTIKOVA, Andrey IVANOV a Dace PJANOVA, 2003. Toluidine blue test for sperm DNA integrity and elaboration of image cytometry algorithm. *Cytometry. Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology* [online]. **52**(1), 19–27. ISSN 1552-4922.

ESPAÑA, Francisco, Silvia NAVARRO, Pilar MEDINA, Esther ZORIO a Amparo ESTELLÉS, 2007. The role of protein C inhibitor in human reproduction. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* [online]. **33**(1), 41–45. ISSN 0094-6176.

ETHICS COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2005. Fertility preservation and reproduction in cancer patients. *Fertility and Sterility* [online]. **83**(6), 1622–1628. ISSN 1556-5653.

EVENSON, Donald P., 2013. Sperm chromatin structure assay (SCSA®). *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* [online]. **927**, 147–164. ISSN 1940-6029.

EWING, L. L., T. Y. WING, R. C. COCHRAN, N. KROMANN a B. R. ZIRKIN, 1983. Effect of luteinizing hormone on Leydig cell structure and testosterone secretion. *Endocrinology* [online]. **112**(5), 1763–1769. ISSN 0013-7227.

FEITELSON, Mark A., Alla ARZUMANYAN, Rob J. KULATHINAL, Stacy W. BLAIN, Randall F. HOLCOMBE, Jamal MAHAJNA, Maria MARINO, Maria L. MARTINEZ-CHANTAR, Roman NAWROTH, Isidro SANCHEZ-GARCIA, Dipali SHARMA, Neeraj

- K. SAXENA, Neetu SINGH, Panagiotis J. VLACHOSTERGIOS, Shanchun GUO, Kanya HONOKI, Hiromasa FUJII, Alexandros G. GEORGAKILAS, Alan BILSLAND, Amedeo AMEDEI, Elena NICCOLAI, Amr AMIN, S. Salman ASHRAF, Chandra S. BOOSANI, Gunjan GUHA, Maria Rosa CIRIOLO, Katia AQUILANO, Sophie CHEN, Sulma I. MOHAMMED, Asfar S. AZMI, Dipita BHAKTA, Dorota HALICKA, W. Nicol KEITH a Somaira NOWSHEEN, 2015. Sustained proliferation in cancer: Mechanisms and novel therapeutic targets. *Seminars in Cancer Biology* [online]. **35 Suppl**(Suppl), S25–S54. ISSN 1096-3650.
- FELDMAN, Darren R., George J. BOSL, Joel SHEINFELD a Robert J. MOTZER, 2008. Medical treatment of advanced testicular cancer. *JAMA* [online]. **299**(6), 672–684. ISSN 1538-3598.
- FERNÁNDEZ, José Luis, Lourdes MURIEL, Vicente GOYANES, Enrique SEGRELLES, Jaime GOSÁLVEZ, María ENCISO, Marie LAFROMBOISE a Christopher DE JONGE, 2005. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test. *Fertility and Sterility* [online]. **84**(4), 833–842. ISSN 1556-5653.
- FOSSÅ, S. D., P. DE ANGELIS, S. M. KRAGGERUD, D. EVENSON, L. THEODORSEN a O. P. CLAUSEN, 1997. Prediction of posttreatment spermatogenesis in patients with testicular cancer by flow cytometric sperm chromatin structure assay. *Cytometry*. **30**(4), 192–196. ISSN 0196-4763.
- FRANCIS, Sarah, Suseela YELUMALAI, Celine JONES a Kevin COWARD, 2014. Aberrant protamine content in sperm and consequential implications for infertility treatment. *Human Fertility (Cambridge, England)* [online]. **17**(2), 80–89. ISSN 1742-8149.
- GERL, A., D. MÜHLBAYER, G. HANSMANN, W. MRAZ a W. HIDDEMANN, 2001. The impact of chemotherapy on Leydig cell function in long term survivors of germ cell tumors. *Cancer* [online]. **91**(7), 1297–1303. ISSN 0008-543X.
- GORCZYCA, W., F. TRAGANOS, H. JESIONOWSKA a Z. DARZYNKIEWICZ, 1993. Presence of DNA strand breaks and increased sensitivity of DNA in situ to denaturation in abnormal human sperm cells: analogy to apoptosis of somatic cells. *Experimental Cell Research* [online]. **207**(1), 202–205. ISSN 0014-4827.
- GOSALVEZ, Jaime, Eva TVRDA a Ashok AGARWAL, 2017. Free radical and superoxide reactivity detection in semen quality assessment: past, present, and future. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. **34**(6), 697–707. ISSN 1573-7330.
- GREEN, Daniel M, Wei LIU, William H KUTTEH, Raymond W KE, Kyla C SHELTON, Charles A SKLAR, Wassim CHEMAITILLY, Ching-Hon PUI, James L KLOSKY, Sheri L SPUNT, Monika L METZGER, DeoKumar SRIVASTAVA, Kirsten K NESS, Leslie L ROBISON a Melissa M HUDSON, 2014. Cumulative alkylating agent exposure and semen parameters in adult survivors of childhood cancer: a report from the St Jude Lifetime Cohort Study. *The Lancet. Oncology* [online]. **15**(11), 1215–1223 [vid. 2024-03-19]. ISSN 1470-2045.
- GRISWOLD, M. D., 1998. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology* [online]. **9**(4), 411–416. ISSN 1084-9521.
- GUO, Xing, Xiao WEI, Zi CHEN, Xiaobin ZHANG, Guang YANG a Shaobing ZHOU, 2020. Multifunctional nanoplatfoms for subcellular delivery of drugs in cancer therapy. *Progress in Materials Science* [online]. **107**, 100599 [vid. 2024-03-19]. ISSN 0079-6425.

- HABERT, René, Hervé LEJEUNE a José M SAEZ, 2001. Origin, differentiation and regulation of fetal and adult Leydig cells. *Molecular and Cellular Endocrinology* [online]. **179**(1), 47–74 [vid. 2024-02-06]. ISSN 0303-7207.
- HALL, P. F., D. C. IRBY a D. M. DE KRETSEK, 1969. Conversion of cholesterol to androgens by rat testes: comparison of interstitial cells and seminiferous tubules. *Endocrinology* [online]. **84**(3), 488–496. ISSN 0013-7227.
- HANAHAN, Douglas a Robert A. WEINBERG, 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* [online]. **144**(5), 646–674. ISSN 1097-4172.
- HANSEN, Torben Frøstrup, Boye Schnack NIELSEN, Anders JAKOBSEN a Flemming Brandt SØRENSEN, 2013. Visualising and quantifying angiogenesis in metastatic colorectal cancer : A comparison of methods and their predictive value for chemotherapy response. *Cellular Oncology (Dordrecht)* [online]. **36**(4), 341–350. ISSN 2211-3436.
- HOEIJMAKERS, J. H., 2001. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* [online]. **411**(6835), 366–374. ISSN 0028-0836.
- HUANG, Peng, Yuan GAO, Jing LIN, Hao HU, Hsien-Shun LIAO, Xuefeng YAN, Yuxia TANG, Albert JIN, Jibin SONG, Gang NIU, Guofeng ZHANG, Ferenc HORKAY a Xiaoyuan CHEN, 2015. Tumor-specific formation of enzyme-instructed supramolecular self-assemblies as cancer theranostics. *ACS nano* [online]. **9**(10), 9517–9527 [vid. 2024-03-19]. ISSN 1936-0851.
- HULEIHEL, Mahmoud a Eitan LUNENFELD, 2020. Approaches and technologies in male fertility preservation. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **21**(15), 5471. ISSN 1422-0067.
- CHAPMAN, R. M., S. B. SUTCLIFFE, L. H. REES, C. R. EDWARDS a J. S. MALPAS, 1979. Cyclical combination chemotherapy and gonadal function. Retrospective study in males. *Lancet (London, England)* [online]. **1**(8111), 285–289. ISSN 0140-6736.
- CHEMES, H. E., 2001. Infancy is not a quiescent period of testicular development. *International Journal of Andrology* [online]. **24**(1), 2–7. ISSN 0105-6263.
- CHEN, Jitang, Ze-Yang DING, Si LI, Sha LIU, Chen XIAO, Zifu LI, Bi-Xiang ZHANG, Xiao-Ping CHEN a Xiangliang YANG, 2021. Targeting transforming growth factor- β signaling for enhanced cancer chemotherapy. *Theranostics* [online]. **11**(3), 1345–1363. ISSN 1838-7640.
- CHEN, Xin, Kiera RYCAJ, Xin LIU a Dean G. TANG, 2013. New insights into prostate cancer stem cells. *Cell Cycle* [online]. **12**(4), 579–586 [vid. 2024-02-17]. ISSN 1538-4101.
- KIRNBAUER, R., J. TAUB, H. GREENSTONE, R. RODEN, M. DÜRST, L. GISSMANN, D. R. LOWY a J. T. SCHILLER, 1993. Efficient self-assembly of human papillomavirus type 16 L1 and L1-L2 into virus-like particles. *Journal of Virology* [online]. **67**(12), 6929–6936. ISSN 0022-538X.
- KOMLODI-PASZTOR, Edina, Dan SACKETT, Julia WILKERSON a Tito FOJO, 2011. Mitosis is not a key target of microtubule agents in patient tumors. *Nature Reviews. Clinical Oncology* [online]. **8**(4), 244–250. ISSN 1759-4782.
- KOPPER, László a Melinda HAJDÚ, 2004. Tumor stem cells. *Pathology oncology research: POR* [online]. **10**(2), 69–73. ISSN 1219-4956.
- KRUMBHAAR, E. B. a Helen D. KRUMBHAAR, 1919. The blood and bone marrow in yellow cross gas (mustard gas) poisoning. *The Journal of Medical Research* [online]. **40**(3), 497-508.3 [vid. 2024-03-12]. ISSN 0097-3599.

- KUMAR, Kishlay, Deepika DEKA, Amar SINGH, D. K. MITRA, B. R. VANITHA a Rima DADA, 2012. Predictive value of DNA integrity analysis in idiopathic recurrent pregnancy loss following spontaneous conception. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. **29**(9), 861–867. ISSN 1573-7330.
- KUWABARA, Wilson Mitsuo Tatagiba, Liling ZHANG, Irmgard SCHUIKI, Rui CURI, Allen VOLCHUK a Tatiana Carolina ALBA-LOUREIRO, 2015. NADPH oxidase-dependent production of reactive oxygen species induces endoplasmic reticulum stress in neutrophil-like HL60 cells. *PloS One* [online]. **10**(2), e0116410. ISSN 1932-6203.
- LAMPE, H., A. HORWICH, A. NORMAN, J. NICHOLLS a D. P. DEARNALEY, 1997. Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancers. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* [online]. **15**(1), 239–245. ISSN 0732-183X.
- LASS, A., F. AKAGBOSU, N. ABUSHEIKHA, M. HASSOUNEH, M. BLAYNEY, S. AVERY a P. BRINSDEN, 1998. A programme of semen cryopreservation for patients with malignant disease in a tertiary infertility centre: lessons from 8 years' experience. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. **13**(11), 3256–3261. ISSN 0268-1161.
- LEE, Stephanie J., Leslie R. SCHOVER, Ann H. PARTRIDGE, Pasquale PATRIZIO, W. Hamish WALLACE, Karen HAGERTY, Lindsay N. BECK, Lawrence V. BRENNAN, Kutluk OKTAY, a AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY, 2006. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* [online]. **24**(18), 2917–2931. ISSN 1527-7755.
- LESSARD, Julie a Guy SAUVAGEAU, 2003. Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells. *Nature* [online]. **423**(6937), 255–260. ISSN 0028-0836.
- LIN, Kingson, Susan E. GUEBLE, Ranjini K. SUNDARAM, Eric D. HUSEMAN, Ranjit S. BINDRA a Seth B. HERZON, 2022. Mechanism-based design of agents that selectively target drug-resistant glioma. *Science (New York, N.Y.)* [online]. **377**(6605), 502–511. ISSN 1095-9203.
- LÓPEZ ANDREU, J. A., P. J. FERNÁNDEZ, J. FERRÍS I TORTAJADA, I. NAVARRO, A. RODRÍGUEZ-INEBA, P. ANTONIO, M. D. MURO a A. ROMEU, 2000. Persistent altered spermatogenesis in long-term childhood cancer survivors. *Pediatric Hematology and Oncology* [online]. **17**(1), 21–30. ISSN 0888-0018.
- LYSSIOTIS, Costas A a Alec C KIMMELMAN, 2017. Metabolic interactions in the tumor microenvironment. *Trends in cell biology* [online]. **27**(11), 863–875 [vid. 2024-01-22]. ISSN 0962-8924.
- MAJUMDER, Joydeb, Oleh TARATULA a Tamara MINKO, 2019. Nanocarrier-based systems for targeted and site specific therapeutic delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. **144**, 57–77. ISSN 1872-8294.
- MARCHETTI, F., J. B. BISHOP, X. LOWE, W. M. GENEROSO, J. HOZIER a A. J. WYROBEK, 2001. Etoposide induces heritable chromosomal aberrations and aneuploidy during male meiosis in the mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **98**(7), 3952–3957. ISSN 0027-8424.
- MARTINEZ, Guillaume, Marie WALSCHAERTS, Marine LE MITOUARD, Remi BORYE, Claire THOMAS, Jacques AUGER, Isabelle BERTHAUT, Florence BRUGNON, Myriam DAUDIN, Nathalie MOINARD, Célia RAVEL, Jacqueline SAIAS, Ethel SZERMAN, Nathalie RIVES, Sylviane HENNEBICQ a Louis BUJAN, 2017. Impact

- of Hodgkin or non-Hodgkin lymphoma and their treatments on sperm aneuploidy: a prospective study by the French CECOS network. *Fertility and Sterility* [online]. **107**(2), 341-350.e5. ISSN 1556-5653.
- MAYER, M. J., L. H. KLOTZ a V. VENKATESWARAN, 2015. Metformin and prostate cancer stem cells: a novel therapeutic target. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* [online]. **18**(4), 303–309. ISSN 1476-5608.
- MEISTRICH, M. L., 1993. Potential genetic risks of using semen collected during chemotherapy. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. **8**(1), 8–10. ISSN 0268-1161.
- MEISTRICH, M. L., M. FINCH, M. F. DA CUNHA, U. HACKER a W. W. AU, 1982. Damaging effects of fourteen chemotherapeutic drugs on mouse testis cells. *Cancer Research*. **42**(1), 122–131. ISSN 0008-5472.
- MEISTRICH, M. L., G. WILSON, B. W. BROWN, M. F. DA CUNHA a L. I. LIPSHULTZ, 1992. Impact of cyclophosphamide on long-term reduction in sperm count in men treated with combination chemotherapy for Ewing and soft tissue sarcomas. *Cancer* [online]. **70**(11), 2703–2712. ISSN 0008-543X.
- MEISTRICH, Marvin L., 2013. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. *Fertility and Sterility* [online]. **100**(5), 1180–1186. ISSN 1556-5653.
- MEISTRICH, Marvin L., 2020. Risks of genetic damage in offspring conceived using spermatozoa produced during chemotherapy or radiotherapy. *Andrology* [online]. **8**(3), 545–558. ISSN 2047-2927.
- MENON, S., N. RIVES, N. MOUSSET-SIMÉON, L. SIBERT, J. P. VANNIER, S. MAZURIER, L. MASSÉ, V. DUCHESNE a B. MACÉ, 2009. Fertility preservation in adolescent males: experience over 22 years at Rouen University Hospital. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. **24**(1), 37–44. ISSN 1460-2350.
- MINI, E., S. NOBILI, B. CACIAGLI, I. LANDINI a T. MAZZEI, 2006. Cellular pharmacology of gemcitabine. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* [online]. **17 Suppl 5**, v7-12. ISSN 1569-8041.
- MITCHISON, Timothy J., 2012. The proliferation rate paradox in antimetabolic chemotherapy. *Molecular Biology of the Cell* [online]. **23**(1), 1–6. ISSN 1939-4586.
- MIZUTANI, Hideki, Saeko TADA-OIKAWA, Yusuke HIRAKU, Michio KOJIMA a Shosuke KAWANISHI, 2005. Mechanism of apoptosis induced by doxorubicin through the generation of hydrogen peroxide. *Life Sciences* [online]. **76**(13), 1439–1453. ISSN 0024-3205.
- NALLELLA, Kiran P., Rakesh K. SHARMA, Nabil AZIZ a Ashok AGARWAL, 2006. Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. *Fertility and Sterility* [online]. **85**(3), 629–634. ISSN 1556-5653.
- NIJS, M., C. DE JONGE, A. COX, M. JANSSEN, E. BOSMANS a W. OMBELET, 2011. Correlation between male age, WHO sperm parameters, DNA fragmentation, chromatin packaging and outcome in assisted reproduction technology. *Andrologia* [online]. **43**(3), 174–179. ISSN 1439-0272.
- NISHIMURA, Hitoshi a Steven W. L'HERNAULT, 2017. Spermatogenesis. *Current Biology* [online]. **27**(18), R988–R994 [vid. 2023-09-26]. ISSN 0960-9822.
- O'CONNOR, Mark J., 2015. Targeting the DNA damage response in cancer. *Molecular Cell* [online]. **60**(4), 547–560. ISSN 1097-4164.

- O'FLAHERTY, Cristian, Barbara F. HALES, Peter CHAN a Bernard ROBAIRE, 2010. Impact of chemotherapeutics and advanced testicular cancer or Hodgkin lymphoma on sperm deoxyribonucleic acid integrity. *Fertility and Sterility* [online]. **94**(4), 1374–1379. ISSN 1556-5653.
- OSTROWSKI, Kevin A. a Thomas J. WALSH, 2015. Infertility with testicular cancer. *The Urologic Clinics of North America* [online]. **42**(3), 409–420. ISSN 1558-318X.
- ÖZDEMİR, Berna C, 2021. Immune checkpoint inhibitor-related hypogonadism and infertility: a neglected issue in immuno-oncology. *Journal for Immunotherapy of Cancer* [online]. **9**(2), e002220 [vid. 2024-03-12]. ISSN 2051-1426.
- PANNER SELVAM, Manesh Kumar, Ashok AGARWAL a Peter N. PUSHPARAJ, 2019. Altered molecular pathways in the proteome of cryopreserved sperm in testicular cancer patients before treatment. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **20**(3), 677. ISSN 1422-0067.
- PAOLI, D., F. RIZZO, G. FIORE, F. PALLOTTI, A. PULSONI, G. ANNECHINI, F. LOMBARDO, A. LENZI a L. GANDINI, 2016. Spermatogenesis in Hodgkin's lymphoma patients: a retrospective study of semen quality before and after different chemotherapy regimens. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. **31**(2), 263–272. ISSN 1460-2350.
- PETERSEN, P. M., N. E. SKAKKEBAEK a A. GIWERCMAN, 1998. Gonadal function in men with testicular cancer: biological and clinical aspects. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* [online]. **106**(1), 24–34; discussion 34-36. ISSN 0903-4641.
- PHI, Lan Thi Hanh, Ita Novita SARI, Ying-Gui YANG, Sang-Hyun LEE, Nayoung JUN, Kwang Seock KIM, Yun Kyung LEE a Hyog Young KWON, 2018. Cancer stem cells (CSCs) in drug resistance and their therapeutic implications in cancer treatment. *Stem Cells International* [online]. **2018**, 5416923 [vid. 2024-02-18]. ISSN 1687-966X.
- PIZZOL, Damiano, Alessandro BERTOLDO a Carlo FORESTA, 2014. Male infertility: biomolecular aspects. *Biomolecular Concepts* [online]. **5**(6), 449–456. ISSN 1868-503X.
- POIRIER, Miriam C., 2012. Chemical-induced DNA damage and human cancer risk. *Discovery Medicine*. **14**(77), 283–288. ISSN 1944-7930.
- POORSATTAR, Solmaz P. a Robin L. HORNUNG, 2007. UV light abuse and high-risk tanning behavior among undergraduate college students. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. **56**(3), 375–379. ISSN 1097-6787.
- QIN, Si-Yong, Yin-Jia CHENG, Qi LEI, Ai-Qing ZHANG a Xian-Zheng ZHANG, 2018. Combinational strategy for high-performance cancer chemotherapy. *Biomaterials* [online]. **171**, 178–197. ISSN 1878-5905.
- RAWAL, Shruti a Mayur M. PATEL, 2019. Threatening cancer with nanoparticle aided combination oncotherapy. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* [online]. **301**, 76–109. ISSN 1873-4995.
- ROSENDAL, Susanne, Ellids KRISTENSEN a Annamaria G. E. GIRALDI, 2008. Sexual dysfunctions in men treated for testicular cancer--secondary publication. *Danish Medical Bulletin*. **55**(4), 211–215. ISSN 1603-9629.
- SAFIAN, Diego, Jan BOGERD a Rüdiger W. SCHULZ, 2019. Regulation of spermatogonial development by Fsh: The complementary roles of locally produced Igf and Wnt signaling molecules in adult zebrafish testis. *General and Comparative Endocrinology* [online]. **284**, 113244 [vid. 2023-09-18]. ISSN 0016-6480.

- SELI, Emre, David K. GARDNER, William B. SCHOOLCRAFT, Odette MOFFATT a Denny SAKKAS, 2004. Extent of nuclear DNA damage in ejaculated spermatozoa impacts on blastocyst development after in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* [online]. **82**(2), 378–383. ISSN 0015-0282.
- SHAMSI, Monis Bilal, Syed Nazar IMAM a Rima DADA, 2011. Sperm DNA integrity assays: diagnostic and prognostic challenges and implications in management of infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. **28**(11), 1073–1085. ISSN 1573-7330.
- SINGH, N. P., M. T. MCCOY, R. R. TICE a E. L. SCHNEIDER, 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research* [online]. **175**(1), 184–191. ISSN 0014-4827.
- SKERGET, Sheri, Matthew A. ROSENOW, Konstantinos PETRITIS a Timothy L. KARR, 2015. Sperm proteome maturation in the mouse epididymis. *PLoS ONE* [online]. **10**(11), e0140650 [vid. 2024-04-02]. ISSN 1932-6203.
- STANLEY, A. a M. A. AKBARSHA, 1994. Ultrastructural changes in the Leydig cell on treatment with vincristine. *Cytobios.* **79**(316), 51–58. ISSN 0011-4529.
- STAPLETON, Shawn, Michael MILOSEVIC, Ian F. TANNOCK, Christine ALLEN a David A. JAFFRAY, 2015. The intra-tumoral relationship between microcirculation, interstitial fluid pressure and liposome accumulation. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* [online]. **211**, 163–170. ISSN 1873-4995.
- STEPHENSON, W. T., S. M. POIRIER, L. RUBIN a L. H. EINHORN, 1995. Evaluation of reproductive capacity in germ cell tumor patients following treatment with cisplatin, etoposide, and bleomycin. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* [online]. **13**(9), 2278–2280. ISSN 0732-183X.
- STUKENBORG, Jan-Bernd, Kirsi JAHNUKAINEN, Marsida HUTKA a Rod T MITCHELL, 2018. Cancer treatment in childhood and testicular function: the importance of the somatic environment. *Endocrine Connections* [online]. **7**(2), R69–R87 [vid. 2024-03-12]. ISSN 2049-3614.
- TANDSTAD, T., O. STÅHL, U. HÅKANSSON, O. DAHL, H. S. HAUGNES, O. H. KLEPP, C. W. LANGBERG, A. LAURELL, J. OLDENBURG, A. SOLBERG, K. SÖDERSTRÖM, E. CAVALLIN-STÅHL, U. STIERNER, R. WAHLQUIST, N. WALL, G. COHN-CEDERMARK, a SWENOTECA, 2014. One course of adjuvant BEP in clinical stage I nonseminoma mature and expanded results from the SWENOTECA group. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* [online]. **25**(11), 2167–2172. ISSN 1569-8041.
- TANG, Siau-Wei, Jenny LIU, Lester JUAY, Kamila CZENE, Hui MIAO, Agus SALIM, Helena M. VERKOOIJEN a Mikael HARTMAN, 2016. Birth rates among male cancer survivors and mortality rates among their offspring: a population-based study from Sweden. *BMC cancer* [online]. **16**, 196. ISSN 1471-2407.
- TEMPEST, Helen G., 2011. Meiotic recombination errors, the origin of sperm aneuploidy and clinical recommendations. *Systems Biology in Reproductive Medicine* [online]. **57**(1–2), 93–101. ISSN 1939-6376.
- TILSED, Caitlin M., Scott A. FISHER, Anna K. NOWAK, Richard A. LAKE a W. Joost LESTERHUIS, 2022. Cancer chemotherapy: insights into cellular and tumor microenvironmental mechanisms of action. *Frontiers in Oncology* [online]. **12**, 960317. ISSN 2234-943X.

- TOURNAYE, Herman, Gert R. DOHLE a Christopher L. R. BARRATT, 2014. Fertility preservation in men with cancer. *Lancet (London, England)* [online]. **384**(9950), 1295–1301. ISSN 1474-547X.
- TROST, Nils, Noe MBENGUE a Henrik KAESSMANN, 2023. The molecular evolution of mammalian spermatogenesis. *Cells & Development* [online]. **175**, 203865 [vid. 2023-09-18]. ISSN 2667-2901.
- TROTTMANN, Matthias, Armin J. BECKER, Thomas STADLER, Julia STRAUB, Irina SOLJANIK, Boris SCHLENKER a Christian G. STIEF, 2007. Semen quality in men with malignant diseases before and after therapy and the role of cryopreservation. *European Urology* [online]. **52**(2), 355–367. ISSN 0302-2838.
- VAJDIC, Claire M. a Marina T. VAN LEEUWEN, 2009. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. *International Journal of Cancer* [online]. **125**(8), 1747–1754. ISSN 1097-0215.
- VAKALOPOULOS, Ioannis, Petros DIMOU, Ioannis ANAGNOSTOU a Theodosia ZEGINIADOU, 2015. Impact of cancer and cancer treatment on male fertility. *Hormones (Athens, Greece)* [online]. **14**(4), 579–589. ISSN 2520-8721.
- VAN CASTEREN, Niels J., Geert H. M. VAN DER LINDEN, Friederike G. A. J. HAKVOORT-CAMMEL, Karel HÄHLEN, Gert R. DOHLE a Marry M. VAN DEN HEUVEL-EIBRINK, 2009. Effect of childhood cancer treatment on fertility markers in adult male long-term survivors. *Pediatric Blood & Cancer* [online]. **52**(1), 108–112. ISSN 1545-5017.
- VAN HAGEN, P., M. C. C. M. HULSHOF, J. J. B. VAN LANSCHOT, E. W. STEYERBERG, M. I. VAN BERGE HENEGOUWEN, B. P. L. WIJNHOFEN, D. J. RICHEL, G. a. P. NIEUWENHUIJZEN, G. a. P. HOSPERS, J. J. BONENKAMP, M. A. CUESTA, R. J. B. BLAISSE, O. R. C. BUSCH, F. J. W. TEN KATE, G.-J. CREEMERS, C. J. A. PUNT, J. T. M. PLUKKER, H. M. W. VERHEUL, E. J. SPILLENAAR BILGEN, H. VAN DEKKEN, M. J. C. VAN DER SANGEN, T. ROZEMA, K. BIERMANN, J. C. BEUKEMA, A. H. M. PIET, C. M. VAN RIJ, J. G. REINDERS, H. W. TILANUS, A. VAN DER GAAST, a CROSS GROUP, 2012. Preoperative chemoradiotherapy for esophageal or junctional cancer. *The New England Journal of Medicine* [online]. **366**(22), 2074–2084. ISSN 1533-4406.
- VÁSQUEZ, Fernando, Carles SOLER, Patricia CAMPS, Anthony VALVERDE a Almudena GARCÍA-MOLINA, 2016. Spermogram and sperm head morphometry assessed by multivariate cluster analysis results during adolescence (12-18 years) and the effect of varicocele. *Asian Journal of Andrology* [online]. **18**(6), 824–830. ISSN 1745-7262.
- VIRRO, Michael R., Kjersten L. LARSON-COOK a Donald P. EVENSON, 2004. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertility and Sterility* [online]. **81**(5), 1289–1295. ISSN 0015-0282.
- WARD, W. S. a D. S. COFFEY, 1991. DNA packaging and organization in mammalian spermatozoa: comparison with somatic cells. *Biology of Reproduction* [online]. **44**(4), 569–574. ISSN 0006-3363.
- WEI, Guoqing, Yu WANG, Guang YANG, Yi WANG a Rong JU, 2021. Recent progress in nanomedicine for enhanced cancer chemotherapy. *Theranostics* [online]. **11**(13), 6370–6392. ISSN 1838-7640.

- WEIDERPASS, Elisabete, 2010. Lifestyle and cancer risk. *Journal of Preventive Medicine and Public Health = Yebang Uihakhoe Chi* [online]. **43**(6), 459–471. ISSN 1975-8375.
- YANG, Li, Yanli PANG a Harold L. MOSES, 2010. TGF-beta and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. *Trends in Immunology* [online]. **31**(6), 220–227. ISSN 1471-4981.
- YEH, Yueh-Chiao, Hui-Chin LAI, Chih-Tai TING, Wen-Lieng LEE, Li-Chuan WANG, Kuo-Yang WANG, Hui-Chun LAI a Tsun-Jui LIU, 2007. Protection by doxycycline against doxorubicin-induced oxidative stress and apoptosis in mouse testes. *Biochemical Pharmacology* [online]. **74**(7), 969–980. ISSN 0006-2952.
- YUMURA, Yasushi, Teppei TAKESHIMA, Mitsuru KOMEYA, Shinnosuke KURODA, Tomoki SAITO a Jurii KARIBE, 2022. Fertility and sexual dysfunction in young male cancer survivors. *Reproductive Medicine and Biology* [online]. **21**(1), e12481. ISSN 1445-5781.
- ZHANG, Xiaobin, Yi WANG, Guoqing WEI, Jingya ZHAO, Guang YANG a Shaobing ZHOU, 2020. Stepwise dual targeting and dual responsive polymer micelles for mitochondrion therapy. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society* [online]. **322**, 157–169. ISSN 1873-4995.
- ZHANG, Yapei, Yang LIU, Xuefeng GAO, Xiaomin LI, Xiaoyan NIU, Zhi YUAN a Wei WANG, 2019. Near-infrared-light induced nanoparticles with enhanced tumor tissue penetration and intelligent drug release. *Acta Biomaterialia* [online]. **90**, 314–323. ISSN 1878-7568.

Zdroje obrázků

- MERCHANT, Rubina, Goral GANDHI a Gautam N. ALLAHBADIA, 2011. In vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection for male infertility. *Indian Journal of Urology: IJU: Journal of the Urological Society of India* [online]. **27**(1), 121–132 [vid. 2024-04-18]. ISSN 0970-1591.
- PIZZOL, Damiano, Alberto FERLIN, Andrea GAROLLA, Andrea LENZI, Alessandro BERTOLDO a Carlo FORESTA, 2014. Genetic and molecular diagnostics of male infertility in the clinical practice. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)* [online]. **19**(2), 291–303. ISSN 2768-6698.
- TROST, Nils, Noe MBENGUE a Henrik KAESSMANN, 2023. The molecular evolution of mammalian spermatogenesis. *Cells & Development* [online]. **175**, 203865 [vid. 2023-09-18]. ISSN 2667-2901.