



Fakulta zemědělská
a technologická
Faculty of Agriculture
and Technology

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

Katedra zootechnických věd

Bakalářská práce

Působení bisfenolu S na lymfatické orgány potkanů

Vedoucí práce: Ing. Roman Konečný, Ph. D.

Autorka práce: Bc. Alexandra Homolková

České Budějovice
2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne.....

.....

Podpis

Abstrakt

Bisfenol S (BPS) je substitutem bisfenolu A (BPA) často používaným při výrobě plastů, tepelných papírů a dalších spotřebních výrobků, se kterými přicházíme do kontaktu každý den. Tak jako BPA je spojován s negativními dopady na imunitní systém, může být působení BPS i v tomto směru podobné. Lymfatický systém hraje klíčovou roli v imunitní odpovědi těla a jakákoli chemická expozice, která by mohla ovlivnit jeho funkci, může mít závažné následky. Informace o přesném vlivu BPS na lymfatické orgány jsou zatím velmi omezené. Předložená bakalářská práce se proto zabývá dopadem chronické orální expozice (deset týdnů) BPS na tělesnou hmotnost, přírůstek tělesné hmotnosti, histopatologické změny a hmotnost vybraných lymfatických orgánů, a také na hematologické parametry potkanů. Studie byla provedena na osmnácti samcích potkanů kmene Wistar Han, kteří byli rozděleni do tří šestičlenných skupin, z toho dvě skupiny byly vystaveny dávce 4 µg a 50 µg BPS/kg hmotnosti/den, poslední skupina byla kontrolní. BPS byl podáván denně žaludeční sondou ve slunečnicovém oleji. Kontrolní skupině byl podáván pouze slunečnicový olej.

Výsledky našeho výzkumu ukazují, že se zvyšující se koncentrací BPS došlo k mírnému statisticky nevýznamnému poklesu tělesné hmotnosti a absolutního přírůstku. Expozice BPS nevyvolala histopatologické změny brzlíku a sleziny, ani nevedla ke statisticky významným změnám absolutní a relativní hmotnosti sleziny. Nebyl prokázán statisticky významný vliv na délku a šířku sleziny. Expozice BPS nezpůsobila statisticky významné změny v celkovém počtu leukocytů a procentuálního zastoupení monocytů, lymfocytů, granulocytů.

Klíčová slova: potkan, bisfenol S, slezina, brzlík, leukocyty

Abstract

Bisphenol S (BPS) is a substitute for bisphenol A (BPA) commonly used in the production of plastics, thermal papers, and various consumer goods encountered in daily life. Just as BPA is associated with negative effects on the immune system, the effects of BPS may be similar in this regard. The lymphatic system plays a key role in the body's immune response, and any chemical exposure that could affect its function may have serious consequences. Information on the exact effect of BPS on the lymphatic organs is still very limited. The presented bachelor's thesis therefore deals with the impact of chronic oral exposure (ten weeks) to BPS on body weight, body weight gain, histopathological changes, and the weight of selected lymphatic organs, as well as on the haematological parameters of rats. The study was conducted on eighteen male Wistar Han rats, which were divided into three groups of six, two of which were exposed to doses of 4 µg and 50 µg of BPS/kg body weight/day, the last group was a control group. BPS was administered daily by gastric gavage in sunflower oil. The control group received only sunflower oil.

The results of our research show that with increasing BPS concentration, there was a slight statistically non-significant decrease in body weight and absolute weight gain. BPS exposure did not induce histopathological changes in the thymus and spleen, nor did it lead to statistically significant changes in the absolute and relative weight of the spleen. There was also no statistically significant effect on the length and width of the spleen. BPS exposure did not cause statistically significant changes in the total number of leukocytes and the percentage representation of monocytes, lymphocytes, and granulocytes.

Keywords: rat, bisphenol S, spleen, thymus, leukocytes

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucímu práce, Ing. Romanovi Konečnému, Ph.D., za odborné vedení mé práce, za cenné rady, za jeho čas a možnost častých konzultací, které mi po celou dobu tvorby bakalářské práce poskytoval.

Obsah

Úvod.....	8
1 Imunitní systém	9
1.1 Buňky imunitního systému	10
1.1.1 Buňky nespecifické imunity	10
1.1.2 Buňky specifické imunity	13
1.2 Orgány imunitního systému	14
1.2.1 Primární lymfatické orgány	14
1.2.2 Sekundární lymfatické orgány	17
2 Mechanismy působení toxických látek na imunitní systém	27
3 Bisfenol S a jeho vlastnosti	28
3.1 Bisfenol S a imunitní systém	28
4 Materiál a metody	30
4.1 Experimentální zvířata	30
4.2 Průběh experimentu	30
4.3 Odběr a zpracování vzorků krve	30
4.4 Odběr vzorků tkání a jejich histologické zpracování	30
4.5 Hmotnostní a morfometrická analýza	31
4.6 Statistická vyhodnocení	31
5 Výsledky a diskuse	34
5.1 Dopad alimentární expozice BPS na tělesnou hmotnost potkanů.....	34
5.2 Účinek BPS na brzlík.....	35
5.3 Účinek BPS na slezinu	37
Závěr	42
Seznam použité literatury.....	43
Seznam obrázků	53
Seznam tabulek	54

Seznam použitých zkratek	55
--------------------------------	----

Úvod

Bisfenol S (BPS) je chemická sloučenina patřící do skupiny bisfenolů, která se používá v průmyslu jako náhrada za bisfenol A (BPA) ve velké části plastových výrobků a dalších materiálech. Tato látka se stala středem pozornosti kvůli své schopnosti nahradit BPA, který byl spojován s potenciálními zdravotními riziky. Jeho podobnost s BPA mu umožňuje poskytovat podobné fyzikální vlastnosti, což z něj činí atraktivní alternativu v mnoha průmyslových odvětvích. Nicméně, podobně jako u BPA, se vznášejí obavy ohledně možného negativního vlivu BPS na lidské zdraví a životní prostředí. To vedlo k rostoucímu zájmu vědecké komunity a regulačních orgánů o důkladné zkoumání možných rizik spojených s expozicí BPS a potřebu vypracování směrnic pro jeho bezpečné používání v průmyslu a spotřebních výrobcích. Existuje stále více důkazů o tom, že BPS může mít podobné hormonální účinky jako BPA, který má schopnost zasáhnout endokrinní systém a hormonální rovnováhu v těle. Některé výzkumy zatím naznačují, že BPS by mohl mít také negativní vliv na imunitní systém, ale je třeba poznamenat, že výzkum v oblasti BPS a jeho vlivu na imunitní systém a zdraví je stále rozvíjející se, a vědci pokračují ve zkoumání potenciálních rizik a účinků této látky.

Cílem bakalářské práce bylo ověřit dopad chronické orální expozice (deset týdnů) BPS na tělesnou hmotnost, přírůstek tělesné hmotnosti, histopatologické změny a hmotnost vybraných lymfatických orgánů, a také na hematologické parametry.

Byla stanovena následující hypotéza: Vybrané dávky BPS vyvolají změny v tělesné hmotnosti, absolutního přírůstku, ve stavbě brzlíku a sleziny, hmotnostních a metrických parametrech sleziny a hematologických parametrech.

1 Imunitní systém

Imunitní systém je adaptační a regulační soustava, která se spolu se systémem nervovým a endokrinním podílí na zajištění integrity mnohobuněčného živočišného organismu a udržení jeho funkcí ve vitálních mezích – homeostáze (Toman, 2009). Úkolem imunitního systému je odstraňovat nefunkční nebo pozměněné buňky organismu, jako například nádorové buňky, staré buňky, mrtvé buňky.

Imunitní systém se skládá z molekul a buněk rozptýlených po organismu a z lymfatických orgánů (Hořejší et al., 2002). První ochrannou linií jsou tzv. anatomické bariéry, jako je kůže a sliznice (včetně slin, slz, mukózních sekretů). Další je fyziologická bariéra v podobě tepla, pH, tenze kyslíku, komplementového systému a interferonů. Pokud antigeny proniknou skrze uvedené bariéry, nastává aktivace buněk nespecifické (přirozené) imunity (Marshall et al., 2018). Do této skupiny buněk náleží neutrofilní granulocyty, monocyty, makrofágy a dendritické buňky (Chottová Dvořáková et Mistrová, 2018), které pohlcují (fagocytují) cizorodé částice. Ty dále zpracují na peptidy určité velikosti, které jsou poté předkládány T-lymfocytům. K buňkám nespecifické imunity se řadí i takzvané NK buňky (*natural killer cells*). Nespecifickou imunitu mají všichni živočichové i bezobratlí. Obratlovci navíc disponují specifickou (získanou) imunitou (Hořejší et Bartůňková, 2002). Specifická imunita se fyziologicky rozvíjí až po narození. Nefunguje samostatně, vždy spolupracuje s nespecifickou imunitou. Specifická imunita se skládá ze dvou hlavních obranných mechanismů: buňkami zprostředkované imunity a humorální imunity. Důležitým faktorem specifické imunity je specifita, diverzita, imunologická paměť a rozlišení vlastních antigenů od cizích, tedy imunologická tolerance. Buněčná imunita zahrnuje T-lymfocyty (cytotoxické), jejichž místem maturace je brzlík (thymus), a které mají schopnost rozpoznávat a ničit infikované buňky. Humorální imunita je zajištěna prostřednictvím B-lymfocytů, které u savců maturují v kostní dřeni anebo ve střevě. Po setkání s antigenem dochází ke vzniku specifických klonů plazmatických buněk produkující protilátky, které se vážou na antigenní struktury na povrchu patogenu a pomáhají jej následně zničit (Toman, 2009). Mimo plazmatických buněk vznikají i klony paměťových buněk, které zprostředkují po opakovaném setkání s patogenem (antigenem) rychlou a silnou imunitní odpověď. Specifická imunitní odpověď se realizuje především v sekundárních lymfatických orgánech, které zahrnují slezinu, mízní uzliny a lymfatickou tkáň sliznic

(MALT). Tyto orgány, respektive tkáně jsou místem setkání buněk imunitního systému se specifickými antigeny (Jílek, 2019).

1.1 Buňky imunitního systému

1.1.1 Buňky nespecifické imunity

Makrofágy

Makrofágy jsou jedněmi z nejdůležitějších buněk imunitního systému. Vývojově patří mezi velmi staré buňky, které se z velké části podobají jednobuněčným měňavkám. V jednotlivých orgánech byly makrofágy odlišně označeny – v játrech jako Kupfferovy buňky, v pojivové tkáni jako histiocyty, v kůži jako Langerhansovy buňky, v kostech jako osteoklasty, chrupavce chondroklasty a v mozku jako mikroglie. Část tkáňových makrofágů vzniká jako monocyty v kostní dřeni a poté jsou vyplavovány do periferní krve, a když cirkulaci asi po osmi hodinách opustí, diferencují se na tkáňové makrofágy. Jejich nejdůležitější funkcí je odstraňování odumřelých buněk těla vlastních. Mezi další funkce patří řízení krvetvorby, hemostázy, hojení ran, zničení mikroorganismů, regulace zánětu, regenerace tkání, cytotoxické reakce, prezentace antigenu T-lymfocytům, regulace dvou typů odpovědí T-lymfocytů a regulace tolerance. Jsou to rezidentní buňky, což znamená, že jsou dlouhodobě přítomny v konkrétních tkáních a nejsou závislé na cirkulaci krve, jak je tomu u některých dalších typů imunitních buněk. Paradoxem je, že některé mikroorganismy, jako jsou například mykobakterie nebo chlamydie, nalézají v makrofázích optimální podmínky k životu. Také mezi makrofágy existuje skupina označovaná jako makrofágy asociované s nádory (TAM), jedná se o buňky, které podporují růst nádorů (Toman, 2009; Hořejší, 2015; Varol et al., 2015; Petřek, 2019).

Dendritické buňky

Dendritické buňky jsou pojmenované na základě jejich dlouhých výběžků podobající se dendritům nervových buněk (Buc, 2001). Tyto buňky vznikají z progenitorových buněk jako makrofágy (myeloidní) anebo z lymfoidních progenitorů (plasmocitární) (Helft et al., 2017). Dendritické buňky jsou schopny zachytit antigenní materiál, jako jsou fragmenty bílkovin z bakterií, virů, nebo jiných patogenů, a prezentovat tyto fragmenty na svém povrchu pomocí molekul hlavního histokompatibilního komplexu

(MHC) (Šedivá et Stříž, 2002; Toman, 2009). Dendritické buňky jsou přítomny v různých fázích vývoje, a to jako nezralé a zralé. Nezralé dendritické buňky mají schopnost fagocytózy. V nelymfatických tkáních se setkávají s antigeny, které zpracovávají k prezentaci a pod jejich vlivem a vlivem zánětlivých buněk dozrávají. Zralé dendritické buňky ztrácí schopnost fagocytózy, migrují do sekundárních lymfatických orgánů, kde prezentují antigeny T (interdigitující dendritické buňky) a B lymfocytům (folikulární dendritické buňky v lymfatických nodulech) (Hořejší et Bartůňková, 2002). Síť dendritických buněk je nepostradatelná pro specifickou imunitní odpověď, hraje klíčovou roli při rozhodování, jaký typ imunitní odpovědi bude spuštěn (například prozánětlivá nebo protizánětlivá odpověď) a jak silná bude imunitní reakce. Dendritické buňky také hrají roli v udržování tolerance imunitního systému k vlastním tkáním. Pomáhají zabránit autoimunitním reakcím, kdy imunitní systém napadá vlastní tělesné buňky a tkáně (Toman, 2009). V menším množství se nacházejí ve všech orgánech a tkáních kromě mozku, varlat a rohovky (Šedivá et Stříž, 2002). Největší počet dendritických buněk je ve sliznicích dýchacího a trávicího traktu, kde představují 1-2 % celkového počtu buněk (Hořejší et Bartůňková, 2002).

Granulocyty

Granulocyty tvoří skupinu buněk nespecifické imunity, které ve své cytoplazmě obsahují velké množství granul. Podle barvitelnosti granul se rozlišují neutrofilny, eozinofily a bazofily (Toman, 2009).

Neutrofilny (neutrofilní granulocyty) jsou nejpočetnějším typem bílých krvinek, u potkanů však zastupují pouze 12–38 % z celkového počtu bílých krvinek (Bolliger, 2004). Svoji důležitostí rozhodují v boji proti mikroorganismům. Vidět je lze jako hnis v místě poranění, ten je z větší části tvořen již zahynulými neutrofilny, které se snažily potlačit lokální infekci a její šíření (Hořejší, 2014). Neutrofilny mají členěné jádro a v cytoplazmě drobná různě se barvící granula. Během vývoje prochází několika stádii, ve kterých přibývají granula obsahující látky bílkovinné povahy s určitou funkcí (např. ve stádiu promyelocytu se vyvíjí velká primární granula obsahující několik bílkovinných látek, mezi nimi také lysozym – enzym katalyzující rozklad polysacharidových řetězců v buněčných stěnách bakterií). U nezralých neutrofilů je jádro kulaté, po-

stupem vývoje se protahuje a nakonec, když je neutrofil zralý, získá laločnatý (segmentovaný) tvar. V krvi jsou unášeny přibližně šest hodin, poté vstupují do tkání, kde přežívají asi dva dny (Toman, 2009).

Eozinofily (eozinofilní granulocyty) obsahují okolo 200 zrn s obalem ve tvaru vajíčka. Tyto zrna obsahují enzymy a jeden nebo více krystalků (Pecka, 2006). U potkanů se počet eozinofilních granulocytů pohybuje v rozmezí 0,1–4,3 % (Knotek et Míšek, 1999; Sharp et Villano, 2012; Treutig et al., 2017). Po dvou až šesti dnech vyvíjení v kostní dřeni, setrvávají šest až dvanáct hodin v krevním oběhu a následně čtyři až šest dní v tkáních (Toman, 2009). Důležitou roli mají při ochraně proti parazitárním onemocněním, kdy ze svých granul uvolňují cytotoxické látky, které parazitům způsobují vážná poškození. Podstatné jsou také při alergických reakcích, kdy fagocytují komplex alergen-protilátka (Heneberg, 2010).

Bazofily (bazofilní granulocyty) jsou nefagocytující buňky v jejichž cytoplazmě nesou velká granula obsahující histamin, serotonin, leukotrieny a heparin. Vyvíjejí se v kostní dřeni, jsou krátkověké – zralé v krevním oběhu přežívají 4-7 dnů (Pecka, 2006) a v krvi potkanů jsou zastoupeny pod 2 % (Ward et al., 2018). Podílí se na průběhu alergických reakcí a antiparazitárních reakcí (Nečas, 2021).

V tkáních jsou přítomny žírné buňky, které stejně jako bazofily charakterizují velká granula obsahující biologicky aktivní látky. Na rozdíl od krátkověkých bazofilů, jsou žírné buňky dlouhověké a rychle a opakovaně se množí. Uvolnění biologicky aktivních látek v případě setkání s antigenem je rychlejší než u bazofilů, někdy může jejich aktivita vést k nepřiměřené alergické reakci. Velmi četné jsou ve střevní sliznici, kůži a plicích. Žírné buňky se v organismu nachází ve dvou typech: pojivové žírné buňky a slizniční žírné buňky (Toman, 2009). Žírné buňky hrají důležitou imunitní roli zejména v propojování nespecifické a specifické imunity (Urb et Sheppard, 2012).

NK buňky

NK buňky neboli přirození zabíječi (*natural killer cells*) jsou součástí vrozeného imunitního systému a mají schopnost rozpoznat a zničit některé buňky, které byly infikovány viry nebo jsou rakovinné. Úlohu hrají také při udržení březosti, regulaci krve tvorby a také růstu jater. Nacházejí se především v periferní krvi, slezině, játrech, plicích a děloze. Ke zničení (apoptóze nebo nekróze) cílové buňky dochází uvolněním

granul s obsahem granzymu a perforinu nebo aktivací receptorů podněcujících apoptózu. Aktivované NK buňky produkují široké spektrum cytokinů a chemokinů, jimiž komunikují s neurohormonálním systémem (Toman, 2009; Nečas, 2021). Na povrchu všech buněk jsou glykoproteiny MHC a na nich navázané krátké peptidové fragmenty proteinů vzniklých v buňce nebo buňkou pohlcených. Zdravá a normální buňka má na svém povrchu desetitisíce komplexů MHC glykoproteinů s „normálními“ peptidy (MHC I), kterých si T-lymfocyty nevšímají. Některé viry, a také nádorové buňky, se brání tím, že umějí potlačit produkci MHC glykoproteinů, takže se infikovaná buňka stává pro T-lymfocyty „neviditelnou“. V takové situaci zasahují právě NK buňky, které umějí rozpoznat a likvidovat zmíněné buňky s abnormálně nízkým množstvím MHC glykoproteinů (Hořejší, 2016).

1.1.2 Buňky specifické imunity

B-lymfocyty

B-lymfocyty se vyvíjejí v kostní dřeni, která je primárním orgánem hematopoézy (tvorby krvinek). V tomto procesu dochází k náhodné rekombinaci genů, díky čemu se formují různé varianty receptorů B-lymfocytů, tzv. B-buněčného receptoru (BCR) na jejich povrchu. B-lymfocyty procházejí procesem selekce, během kterého jsou buňky s nevhodnými nebo autoreaktivními BCR eliminovány nebo regulovány tak, aby nezpůsobily autoimunitní reakce. Vypělé B-lymfocyty migrují z kostní dřene do lymfatických uzlin nebo do sleziny, kde se mohou setkat s antigeny. K aktivaci B-lymfocytů dochází, když BCR na jejich povrchu rozpozná specifický antigen. Aktivované B-lymfocyty se diferencují na buňky plazmatické (kolující v krvi a lymfě a jsou specializované na produkci protilátek), a paměťové buňky. Tvorba protilátek (imunoglobulinů) je klíčovým mechanismem B-lymfocytů pro obranu organismu proti infekcím (Chottová Dvořáková et Mistrová, 2018). Vzniklé protilátky následně cirkulují v tělních tekutinách, jako je krev a lymfa, a jsou schopny působit mimo buňky (Kittnar, 2020).

T-lymfocyty

T-lymfocyty působí proti antigenům odlišně, než je tomu u B-lymfocytů. T-lymfocyty potřebují s infikovanou nebo abnormální buňkou přímý kontakt. Tato složka specifické imunitní odpovědi je proto nazývána jako buněčná imunita. V těle se nachází tři

hlavní typy T-lymfocytů, a to pomocné T-buňky (Th), cytotoxické T-buňky (Tc) a regulační T-buňky (Treg). Pomocné T-buňky obecně napomáhají průběhu imunitní reakce, aktivaci cytotoxických T-buněk, B-lymfocytů, tvorbě imunoglobulinů a také zvyšují aktivaci makrofágů a NK buněk, čímž zasahují i do průběhu nespecifické imunitní odpovědi. Cytotoxické T-buňky jsou samy přímo zodpovědné za ničení patogeních struktur, jako jsou buňky napadené virem či jiným intracelulárním patogenem a buňky nádorové. Regulační T-buňky mají regulační účinek na ostatní buňky imunitního systému, zejména na jiné druhy T-lymfocytů, ale i B-lymfocytů, a tím podporují toleranci k vlastním antigenům (Kittnar, 2020).

1.2 Orgány imunitního systému

Orgány imunitního systému se obecně dělí na primární a sekundární (Toman, 2009) případně terciární, které jsou spojené se zánětlivými reakcemi u autoimunitních onemocnění nebo chronických zánětů (Brown et al., 2011).

1.2.1 Primární lymfatické orgány

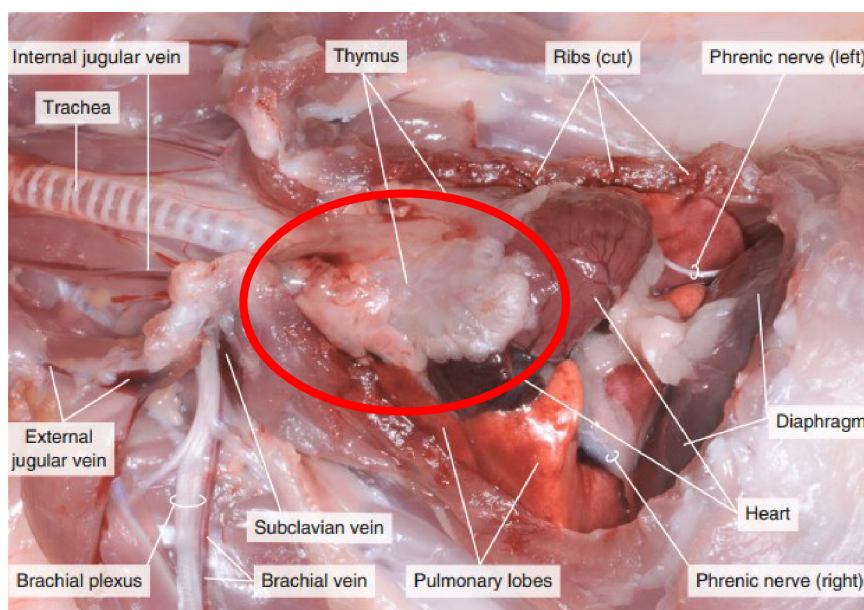
Funkcí primárních lymfatických orgánů je vznik, diferenciací a zrání imunokompetentních buněk (Hořejší et Bartůňková, 2002).

Kostní dřev (Medulla ossium)

Kostní dřev se z hlediska zastoupení buněk, a i funkčního stádia dělí na několik typů (Jelínek et Jelínek, 2006). Červená kostní dřev bohatá na červené krvinky (probíhá zde krvetvorba), s věkem jedince postupně přechází ve žlutou kostní dřev (kdy jsou nahrazeny buňky červené kostní dřevě populací tukových buněk) a nakonec v šedou kostní dřev (Eurell et Frappier, 2006; Jelínek et Jelínek, 2006; Samuelson, 2007). Hlavním úkolem červené kostní dřevě je tedy již zmíněná krvetvorba a také zde probíhá zrání B-lymfocytů (u myši a člověka, ne však u řady hospodářských zvířat, kde je místem zrání B-lymfocytů lymfatická tkáň střeva). Červená kostní dřev se nachází mezi trámci houbovitě kostní tkáň krátkých a plochých kostí a dřevových dutinách dlouhých kostí (Jelínek et Jelínek, 2006). Strukturálně ji tvoří síť retikulárních buněk, kmenové buňky, a různá vývojová stadia krevních buněk. T-lymfocyty se zde vyvíjí jen

krátce, poté osidlují kůru brzlíku k následné diferenciaci. B-lymfocyty opouštějí červenou kostní dřev ve více pokročilém stádiu vývoje než T-lymfocyty a následně osidlují sekundární lymfatické orgány (Földi et Földi, 2014).

Brzlík (*Thymus*)

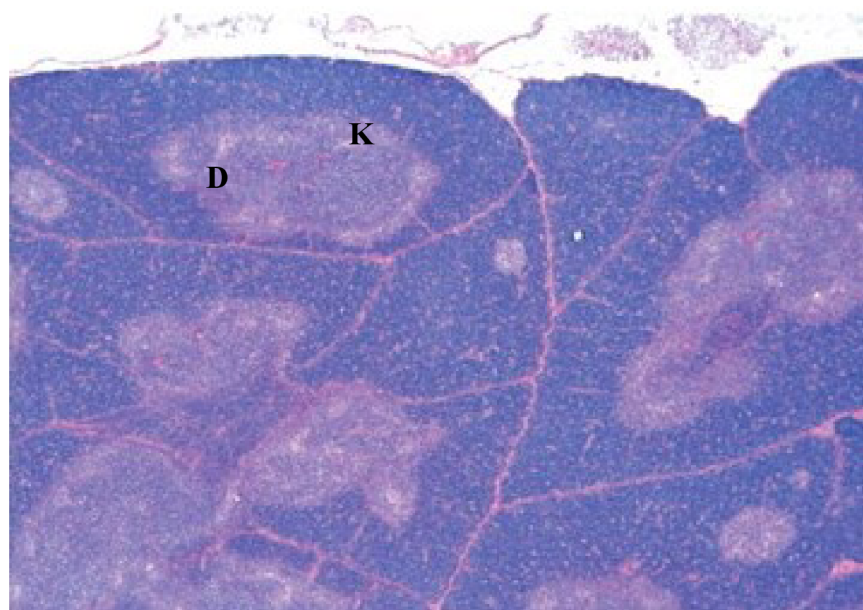


Obrázek 1.1: Brzlík potkana (červená elipsa) (převzato: Lów et al., 2016)

Brzlík (thymus) je primární lymfatický orgán, který je nezbytný pro normální vývoj a funkci imunitního systému (Pearse, 2006; Rebelatto, 2018). Oproti dalším lymfatickým orgánům je brzlík tvořen ze dvou embryonálních základů. Lymfocyty vznikající z mezenchymu a epitelové retikulum (stroma brzlíků) z endodermu ze třetí a čtvrté žaberní výchlípy (Junqueira et Carneiro, 2005). Brzlík je makroskopicky i mikroskopicky podobný u lidí i potkanů (Ward et al., 2018). Skládá se z pravého a levého laloku, které se nacházejí ventrálně od průdušnice v kraniální části dutiny hrudní (Knotek et Míšek, 1999; Suckow et al. 2005; Sharp et Villano, 2012; Treutig et al., 2017). Oba laloky jsou spojeny tenkým můstkem pojivové tkáně nazývaným „isthmus“ (Ward et al., 2018). Barva brzlíku potkanů je od slonovinové až po růžovou (Brelinska et al. 1985; Rebelatto, 2018.) Velikost brzlíku se s věkem mění (Földi et Földi, 2014). U hlodavců dosáhne brzlík maximální velikosti (4-8 % tělesné hmotnosti), v 3-6 týdnech a poté postupně podléhá atrofii (involuci) související s přibývajícím věkem. His-

tologicky je patrná deplece lymfocytů, zvýšení počtu epiteloretikulárních buněk a rovněž zvyšující se podíl adipocytů (Eurell et Frappier, 2006). U člověka je možné pozorovat atrofii výrazněji než u hlodavců (Treutig et al., 2017; Ward et al., 2018). Což znamená, že v době, kdy jsou tato zvířata využívána k laboratorním účelům, zůstává brzlík důležitým indikátorem pro zjištění účinků testované látky na imunitní systém. Často se může jednat o změny hmotnosti brzlíku, které jsou následkem histomorfologických změn (Haley, 2017). Váha brzlíku u potkana v 2-4 měsících je zhruba 300-400 mg. U potkanů je běžný „ektopický“ brzlík (Ward et al., 2018). To znamená, že se vyskytuje rozšíření jednoho nebo obou laloků do krční oblasti (Haley, 2017).

Povrch brzlíku je kryt vazivovým pouzdrem, ze kterého odstupují do nitra orgánu vazivové přepážky (nesoucí krevní, případně lymfatické cévy), dělící parenchym brzlíku na různě velké nepravé lalůčky, tzn. neúplně v hloubce oddělené (Balko et al. 2021). Stroma brzlíku je tvořeno různými typy epiteloretikulárních buněk, které se liší uložením, expresí antigenů a schopností syntézy hormonů brzlíku (tymických hormonů) (Pearse, 2006). Pearse (2006) ve své publikaci popisuje subkapsulární kortikální, vnitřní kortikální, medulární epiteloretikulární buňky a Hassalova tělíska. Významná funkce epiteloretikulárních buněk je také tvorba hematotypické bariéry, která je nezbytná pro správnou diferenciaci, maturaci T-lymfocytů (Balko et al., 2021). Parenchym brzlíku (Obrázek 1.2.) se při přehledném barvení jeví jako tmavá oblast, kde jsou k sobě těsně nahloučené T-lymfocyty, na úkor epiteloretikulárních buněk anebo světlá oblast dřeně s vyšší četností epiteloretikulárních buněk, s nižším zastoupením lymfocytů.



Obrázek 1.2: Histologický řez brzlíkem potkana (převzato: Pearse, 2006), K – kůra; D – dřeň

V kůře brzlíku dochází k maturaci T-lymfocytů, proto se zde vyskytují různá vývojová stádia těchto buněk. Těsně pod pouzdrem jsou mitoticky aktivní buňky (Pearse, 2006; Balko et al., 2021). Směrem ke dřeni jsou přítomny vyzářující T-lymfocyty (mitoticky méně aktivní) (Balko et al., 2021). Typické jsou také „*Tingible body macrophages*“, které fagocytují apoptoticky zaniklé buňky (Pearse, 2006), v kůře se tak formují oblasti nazývané v angličtině „*starry sky*“. Na hranici kůry a dřene se nachází oblast kortikomedulární junkce, kde se vyskytují četné cévy, T-lymfocyty, dendritické buňky i B-lymfocyty (Pearse, 2006; Ross et Pawlina, 2011). Ve dřeni jsou přítomny T-lymfocyty, interdigitující dendritické buňky, makrofágy, B-lymfocyty (Pearse, 2006; Rebelatto, 2018). Typické jsou pro dřeň Hassalova tělíska, skládající se z polyedrických epiteloretikulárních buněk, přičemž u potkana nejsou tato tělíska tak výrazná jako u dalších druhů zvířat (Bacha et Bacha, 2012; Rebelatto, 2018). S přibývajícím věkem se ve dřeni vyskytují také tubulární a cystické struktury, které jsou tvořeny kubickými epiteloretikulárními buňkami (Rebelatto, 2018).

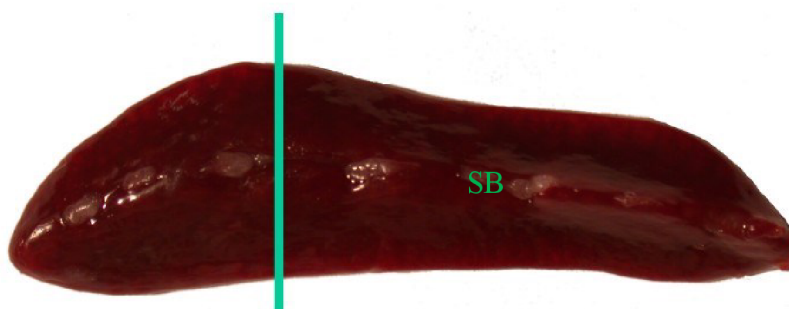
1.2.2 Sekundární lymfatické orgány

Sekundární lymfatické orgány udržují populaci zralých lymfocytů a jsou místem antigenní stimulace a klonální expanze (Taylor, 2014).

Slezina

Slezina je největší sekundární lymfatický orgán, který slouží k filtraci krve a k zprostředkování imunitních odpovědí. Nedílnou funkcí sleziny je odstranění abnormálních erytrocytů a krevních destiček (Rebelatto, 2018). U potkanů je také místem mimodřevé krvetvorby (extramedulární hematopoézy) (Ward et al., 2018), která u tohoto druhu probíhá v červené pulpě i postnatálně (Suckow et al., 2005; Sharp et Villano, 2012).

U potkana se slezina nachází na levé straně dutiny břišní u velkého zakřivení žaludku (Obrázek 1.4). Má hnědočervenou barvu, plochý a protáhlý tvar. Slezinná branka (hilus) se táhne přes celou délku sleziny (Obrázek 1.3). Na slezinou branku se upíná velká opona, která je fixována k velkému zakřivení žaludku, tak je slezina připojena k tomuto orgánu (Rebelatto, 2018). Slezinná branka je místo, kde vstupují a vystupují cévy a také nervy, rovněž odvodné (eferentní) lymfatické cévy (Cesta, 2006).

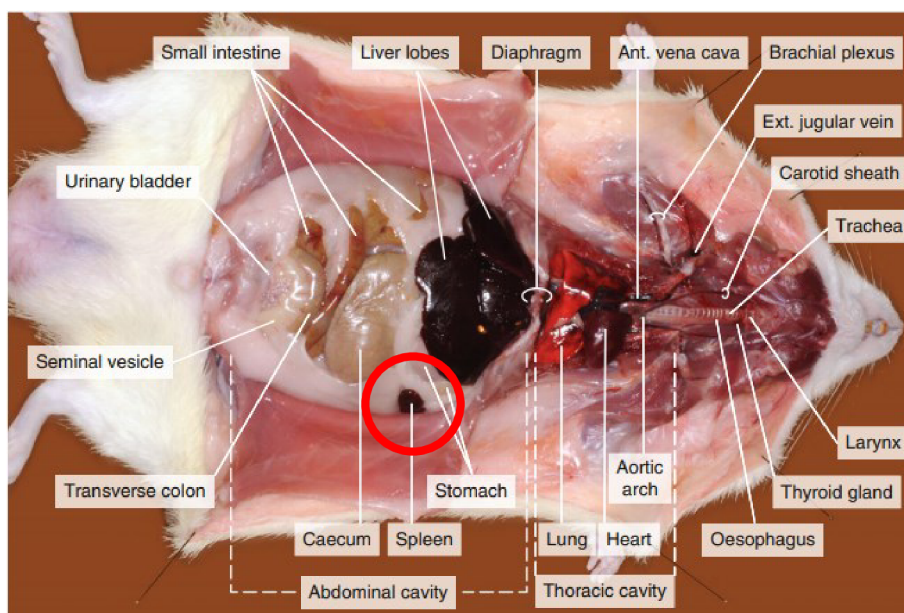


Obrázek 1.3: Slezina potkana (převzato: Morawietz et al., 2004). SB – slezinná branka

Průměrná délka sleziny se pohybuje v rozmezí 3-5 cm a hmotnost u dospělých jedinců mezi 500-750 mg až 1350 mg (Knotek et Míšek, 1999; Treuting et al., 2017). Hmotnost a délka jsou variabilní u zvířat stejného věku a tělesné hmotnosti. Samci mají zpravidla vyšší hmotnost sleziny nežli samice (Rebelatto, 2018).

Podobně jako u mízní uzliny je slezina kryta poměrně tenkým vazivovým pouzdrém z kolagenního vaziva s příměsí elastických vláken a hladkosvalových buněk (Rebelatto, 2018; Ward et al., 2018). Hladkosvalové buňky jsou však nečetné, proto slezina potkanů není schopna shromažďovat krev, jako je tomu u tzv. zásobního typu sleziny. U potkanů se jedná spíše o obranný typ sleziny jako u lidí, myši, králíků a nehumánních primátů (Haley, 2017; Ward et al., 2018). Zevně je vazivové pouzdro kryto útrobním (viscerálním) listem pobřišnice, sestávající se z řídkého kolagenního vaziva

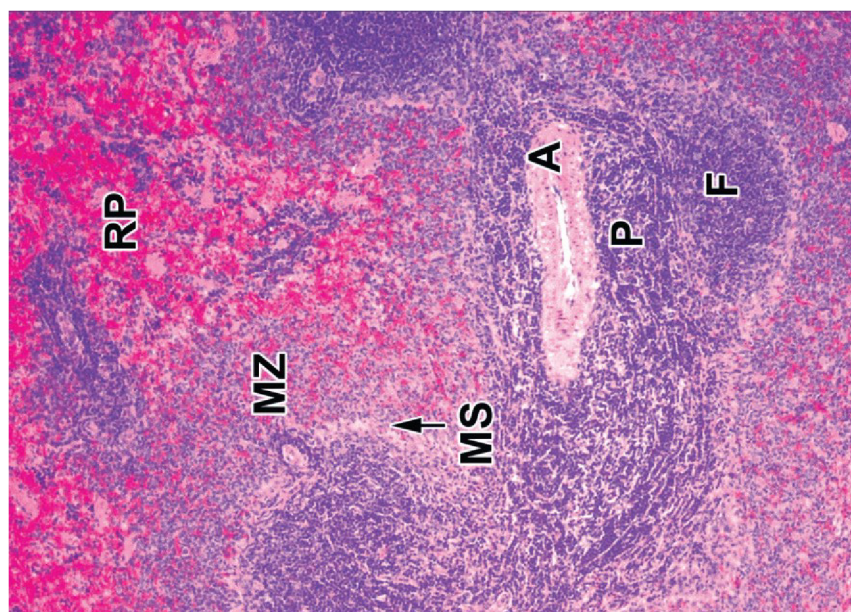
a mezoteliálních buněk (Balko et al., 2021). Z vazivového pouzdra odstupují do parenchymu sleziny vazivové trámce, nesoucí tepny, žíly, lymfatické cévy a nervy (Mebius et Kraal, 2005). Mezi trámci se nachází retikulární vazivo, které obsahuje lymfoidní buňky, makrofágy a buňky prezentující antigeny (Junqueira et Carneiro, 2005).



Obrázek 1.4: Slezina (červený kruh) (převzato: Lów et al., 2016)

Parenchym sleziny (Obrázek 1.5) lze rozdělit do dvou, respektive někteří autoři uvádí do tří oblastí. Obecně se popisuje bílá a červená pulpa. Mezi těmi dvěma kompartmenty je přítomna marginální zóna (Mebius et Kraal, 2005; Cesta, 2006; Steiniger et al., 2006; Rebbeco a Rebelatto, 2018; Balko et al. 2021). Poměr bílé a červené pulpy je mezidruhově odlišný. U hlodavců, tedy i u potkana převládá bílá pulpa (Ward et al., 2018). Bílá pulpa zajišťuje imunologickou činnost sleziny a sestává se z periarteriálních lymfatických plášťů (PALS) a lymfatických nodulů (Mebius et Kraal, 2005; Rebelatto, 2018). Již z názvu tohoto kompartmentu je zřejmé, že se jedná o oblast, která obklopuje arterii, která vystupuje z vazivových trámců (Jelínek et Jelínek, 2006). Rebelatto (2018) však uvádí, že se jedná o arteriální větve, které vstupují přímo z vazivového pouzdra do parenchymu sleziny. Dle přítomnosti populací buněk se PALS dělí na vnitřní, intenzivně se bazofilně barvící tzv. T dependentní zónu s přítomnými T-lymfocyty ($CD4^+$, $CD8^+$) a interdigitujícími dendritickými buňkami a zevní zónu, kde jsou kromě T-lymfocytů přítomny i B-lymfocyty, makrofágy, případně i plazmatické

buňky (Mebius et Kraal, 2005). Ve slezině se vyskytují jak primární, tak sekundární lymfatické noduly, které se často nachází při bifurkaci centrálních arteriol (Ward et al., 1999). Do lymfatických nodulů vstupují B-lymfocyty z folikulárních kapilár, které tvoří síť v germinálních centrech a ústí do vnitřní části marginální zóny (Rebelatto, 2018; Balko et al., 2021). Lymfatické noduly se vyskytují v neaktivní slezině méně často, nežli je tomu v mízních uzlinách, proto v některých řezech mohou dokonce absentovat, a je patrný pouze PALS (Rebelatto, 2018). Marginální zóna je u potkana poměrně výrazná (Suckow et al., 2005; Sharp et Villano, 2012), jedná se o místo, kde buňky vystupují z cirkulace a následně pronikají do bílé pulpy (Mebius et Kraal, 2005). Dle Schmit et al. (1993) zabírá až 28 % sleziny. Marginální zónu tvoří síť retikulárních buněk, ve které se nachází B-lymfocyty, erytrocyty, trombocyty, granulocyty, monocyty, dendritické buňky a specifické buňky pro tuto oblast, jako jsou necirkulující B-lymfocyty (Weill et al., 2009; Hendricks et al., 2011) a makrofágy („*metallophilic macrophages*“) (Mebius et Kraal, 2005; Rebelatto, 2018). „*Metallophilic macrophages*“ jsou buňky, které exprimují specifické receptory a nachází se pouze v marginální zóně v oblasti bílé pulpy (Mebius et Kraal, 2005). Na zónu těchto buněk navazuje systém vzájemně propojených kanálků (marginální sinus), do kterých ústí kapiláry bílé a červené pulpy (Sasou et al., 1976; Mebius et Kraal, 2005; Cesta 2006; Eurell et Frappier, 2006). Červená pulpa se napojuje na marginální sinus (Eurell et Frappier, 2006). V červené pulpě se odlišují dva kompartmenty, slezinné (Billrothovy) provazce, které formují síť v extravaskulárním prostoru sleziny (Balko et al., 2021) a venózní (slezinné) siny. Podstatu slezinných provazců tvoří retikulární vazivo, erytrocyty, B-lymfocyty, plazmatické buňky, makrofágy, granulocyty, erytrocyty a trombocyty (Tichý et al., 2004; Steiniger et al., 2006; Arnon et al., 2013; Gordon et al., 2014; Balko et al., 2021). Slezinné siny od sebe oddělují slezinné provazce. Jedná se o nepravidelné šterbinkovité prostory (Tichý et al., 2004), jejich stěna sestává z protáhlých, vřetenovitých endotelových buněk, mezi kterými se formují šterbiny pro průnik buněk a různých látek (Bacha et Bacha, 2012; Balko et al., 2021). Endotelové buňky jsou podpořeny nesouvislou bazální membránou. Slezinné siny jsou obdány kruhově uspořádaným retikulárním vazivem, připomínající obruče sudu (Steiniger et al., 2006; Gordon et al., 2014; Balko et al., 2021).



Obrázek 1.5: Histologický řez slezinou (převzato: Cesta, 2006), RP – červená pulpa; MZ – marginální zóna; MS – marginální sinus; A – centrální arterie; P – periarteriální lymfatický plášť; F – lymfatický nodulus

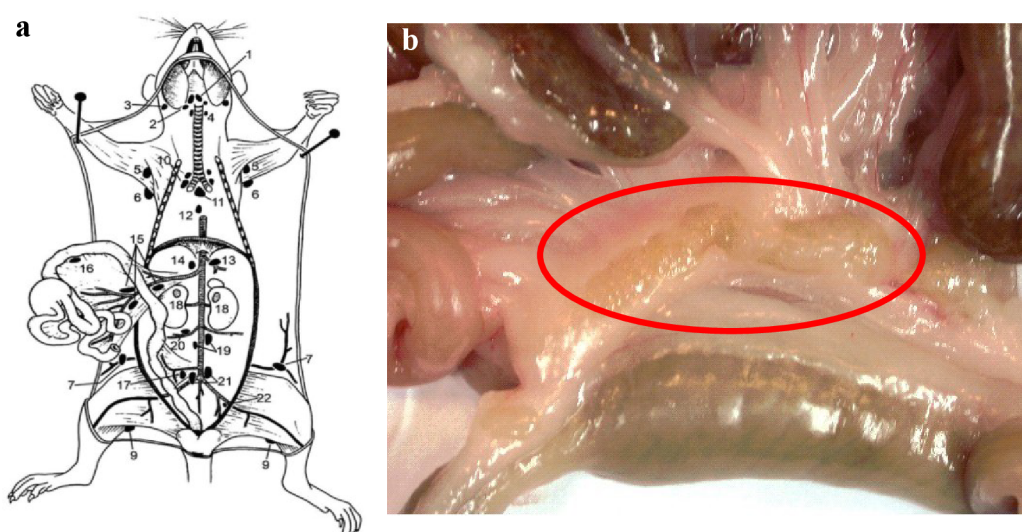
Slezina je zásobena slezinnou tepnou, která odstupuje z tepny žaludeční oblasti (McGavin et Zachary, 2007; Ikegami et al., 2016). Po vstupu do sleziny skrze slezinnou branku se tato tepna větví na pět až devět větví, okolo kterých se v parenchymu sleziny formuje PALS, a po opakovaném větvení vstupují do lymfatických nodulů anebo přímo do červené pulpy (Banks, 1993; Rebelatto, 2018). Tepénka (arteriola) v lymfatickém nodulu se popisuje jako centrální arteriola. Z centrální arterioly odstupují radiálně folikulární kapiláry, které ústí do marginální zóny. Červená pulpa je zásobena tepénkami, které se ukončují v krevních sinech anebo parenchymu sleziny (Ross et Pawlina, 2011). Z krevních sinů je krev sbíraná do žil sleziny, které pronikají do vazivových trámčů jako trabekulární žíly (vény), po jejichž splynutí vzniká slezinná žíla ústící do vrátnicové (portální) žíly (Ross et Pawlina, 2011; Rebelatto, 2018).

Mízní uzliny (*nodus lymphaticus*)

Mízní neboli lymfatické uzliny plní u hlodavců a lidí podobnou funkci. Jsou rozhodujícím orgánem při zprostředkování imunitních reakcí na exogenní a endogenní podněty. Představují kritickou spojnici, kde se setkávají antigen prezentující buňky, antigeny z lymfy a lymfocyty rekrutované do lymfatických uzlin z krve (Ohtani et Ohtani, 2008). Jednotlivé uzliny jsou propojeny systémem lymfatických cest, které transportují lymfu, podobně jako cévy krev, a každá uzlina slouží jako její biologický filtr

(Ward et al., 2018). Mízní uzliny (Obrázek 1.6), které filtrují lymfu z určité anatomické oblasti se nazývají regionální, naproti tomu mízní uzlina (uzliny) daného orgánu jsou sentinelové uzliny (Balko et al., 2021).

Uzliny hlodavců jsou obecně velmi malé (1-4 mm) a obtížně odlišitelné v tuku nebo jiných tkáních (Ward et al., 2018). Například myš má lymfatických uzlin relativně málo (přibližně 22) a jsou organizovány do jednoduchých řetězců. S rostoucí velikostí živočišného druhu se lymfatické uzliny stávají početnějšími, zvětšují se a jsou organizovány do stále složitějších řetězců (Haley, 2017). V počtu uzlin mohou existovat roz-

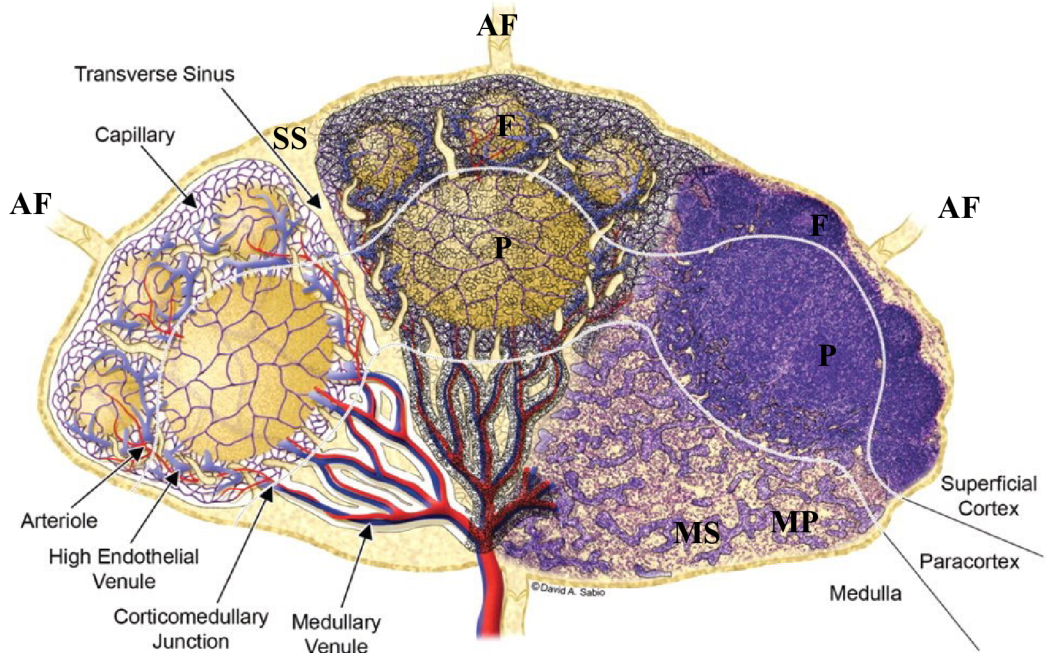


Obrázek 1.6: a) Anatomické rozmístění lymfatických uzlin u potkana (převzato: Ward et al., 2018). b) Makroskopicky patrné mezenteriální mízní uzliny (červená elipsa) (převzato: Morawietz et al., 2004)

díly nejen mezi jednotlivými druhy, ale také uvnitř druhu stejného (Ward et al., 2018). Dalším příkladem je, že u potkana jsou dvě mediastinální uzliny, zatímco pes má tři až pět tracheobronchiálních uzlin a u člověka jich je třicet pět nebo více rozdělených do pěti samostatných skupin. Uzliny větších druhů mají také zvýšený počet propojených aferentních lymfatických cév ve srovnání s uzlinami u menších druhů (Haley, 2017). Nezbytné je poznamenat, že mízní uzliny se v těle liší svým tvarem, velikostí, barvou, a to v závislosti na jejich lokalizaci. Například tříselné a mezenteriální mízní uzliny (Obrázek 1.6b) jsou formovány do shluků krátkých řetězců, jiné mohou mít dlouhý protáhlý či fazolovitý tvar (Rebelatto, 2018). Na lymfatických uzlinách se popisuje konvexní část, kde do mízní uzliny vstupují přívodné (aferentní) lymfatické cévy, na opačné straně se nachází konkávní část (branka mízní uzliny), kde z mízní uzliny vystupují odvodné (eferentní) lymfatické cévy a vstupují, respektive vystupují

krvní cévy, doprovázené nervy (Jelínek et Jelínek, 2006). Povrch mízních uzlin kryje vazivové pouzdro z kolagenního vaziva, z něhož odstupují vazivové trámce s krevními cévami a nervy (Eurell et Frappier, 2006; Ward et al., 2018). Stroma uzliny je tvořeno retikulárním vazivem (Eurell et Frappier, 2006). Na histologickém řezu lze odlišit kůru a dřev mizní uzliny (Obrázek 1.7).

Kůra (*kortex*) se na základě uspořádání a přítomnosti specifických buněk člení na kůru povrchovou (superficiální), která se rozprostírá přímo pod vazivovým pouzdem, respektive okrajovým splavem (subkapsulárním sinem) a hlubokou (parakortikální), která je na hranici kůry a dřevě (Ross et Pawlina, 2011). Povrchová kůra je tvořena primárními a sekundárními lymfatickými noduly (folikuly) oddělenými difuzní lymfatickou tkání (Samuelson, 2007; Ward et al., 2018). Lymfatické noduly představují uzlíkovité shromáždění především B-lymfocytů (Balko et al., 2021). Primární lymfatické noduly jsou malé a bez zárodečných center. Jsou tvořeny především z malých lymfocytů, které jsou k sobě těsně nahloučeny. Přítomny jsou rovněž folikulární dendritické buňky (Balko et al., 2021). V centru folikulu se vyskytuje menší počet větších lymfoidních buněk (Rebelatto, 2018). Po antigenní stimulaci se lymfatické noduly zvětšují a formují se v nich zárodečná (germinativní) centra (mikroskopicky se jeví jako světlejší oblasti) (Haley, 2017; Rebelatto 2018). Lymfatický nodulus se zárodečným centrem se také nazývá jako aktivní či sekundární (Toman, 2009). V zárodečných centrech probíhá výběr centrocytů, které dozrávají v plazmatické buňky a paměťové buňky (Balko et al., 2021). V sekundárním lymfatickém nodulu jsou přítomny centroblasty, centrocyty, folikulární dendritické buňky a Th-lymfocyty (Mills, 2007; Balko et al., 2021). Rebelatto (2018) popisuje také terciární noduly, které představují regresi anebo pokles aktivity sekundárního lymfatického nodulu. V centru těchto folikulů se vyskytuje méně makrofágů a lymfoblastů.



Obrázek 1.7: Schéma histologické stavby mízní uzliny (převzato: Willard-Mac, 2006)

AF – aferentní lymfatické cévy; SS – subkapsulární sinus; F – lymfatický nodulus; MS – medulární sinus; MP – dřevový provazec; Superficial Cortex – povrchová kůra; Medulla – dřev; Paracortex – hluboká kůra; High Endothelial Venule – postkapilární venuly s vysokým endotelem

Hluboká kůra je formována z difuzně rozptýlených T-lymfocytů, interdigitujících dendritických buněk, mezi lymfatickými noduly a dřeví mízní uzliny (Samuelson, 2007; Balko et al., 2021). Periferie hluboké kůry je bohatá na postkapilární venuly s vysokým endotelem (HEV), které jsou místem recirkulace T-lymfocytů a lymfatickými sinými, nesoucí malé lymfocyty (Young et al., 2006; Rebelatto 2018; Balko et al., 2021). HEV vystylají kubické buňky, jejichž výška se po antigenní stimulaci zvyšuje až na cylindrický tvar (Dabak et Ozturk, 2003; Mills, 2007). Dle Rebellato (2018) velikost kůry a počet lymfatických nodulů částečně závisí na rovině řezu.

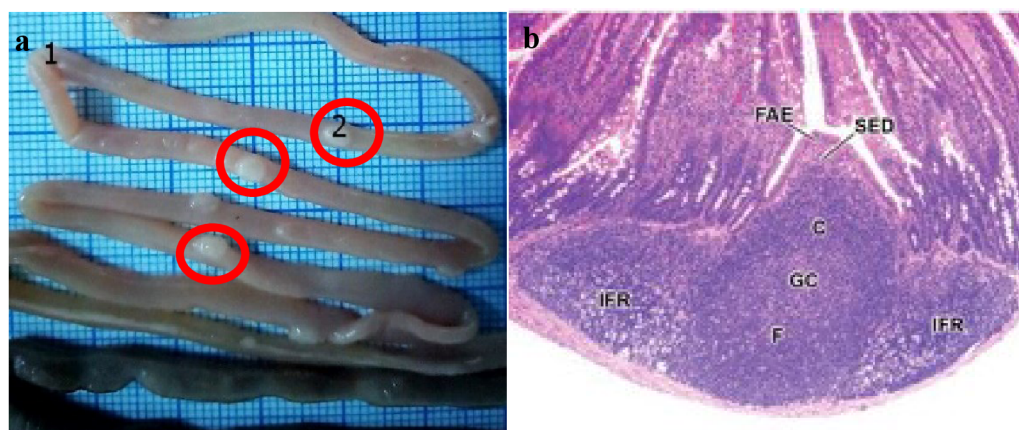
Jak je výše uvedeno na hlubokou kůru navazuje dřev mízní uzliny, která zpravidla bývá ve středu mízní uzliny (Ross et Pawlina, 2011). Dřev tvoří lymfatická tkáň, která odstupuje z hluboké kůry v podobě větvících se a vzájemně se propojujících se dřevových provazců oddělených dřevovými sinými (Eurell et Frappier, 2006; Balko et al., 2021). Dřevové provazce jsou tvořeny B-lymfocyty, makrofágy a plazmatickými buňkami (Ross et Pawlina, 2011; Balko et al., 2021). Zastoupení populací uvedených buněk závisí na imunitním stavu mízní uzliny (v hyperplastické mízní uzlině se zvyšuje podíl plazmatických buněk oproti malým lymfocytům) (Rebellato et al., 2021).

Mízní uzlina je prostoupena prostory nepravidelného tvaru, které se vzájemně propojují. Tyto prostory se popisují jako mízními splavy (siny) (Eurell et Frappier, 2006; Balko et al., 2021). Stěnu sinů tvoří ploché retikulární buňky (Eurell et Frappier, 2006). Dle polohy se siny dělí na subkapsulární, které přijímají lymfu z aferentních lymfatických cév, trabekulární, které se táhnou podél vazivových trámců a dřevňové, na které jak je výše uvedeno navazuje eferentní lymfatická céva (Ross et Pawlina, 2011; Rebellato et al., 2021).

Lymfatická tkáň asociovaná se sliznicemi (*Mucosa-associated lymphoid tissues*)

Lymfatická tkáň asociovaná se sliznicemi má souhrnný název MALT (*mucosa associated lymphoid tissue*), který zahrnuje morfologické a funkční zvláštnosti jednotlivých tkání (Toman, 2009). Hlavní funkcí MALT je antigenně specifická produkce a sekrece IgA protilátek, Th2 závislá imunitní reakce a tvorba imunologické tolerance (Gormley et al., 1998; Haschek et al., 2009). MALT tvoří organizovaná lymfatická tkáň a difúzně rozptýlené buňky v epitelu, ve vazivové vrstvě sliznice (*lamina propria mucosa*) nebo v intersticiu (Bienenstock et Clancy, 2005). Tato tkáň bývá ve spojení se sliznicemi, nosí dutiny (NALT), sluchového systému (ATALT), plic (BALT) a gastrointestinálního traktu (GALT) (Cesta 2006; Kuper 2006; Ward et al., 2018).

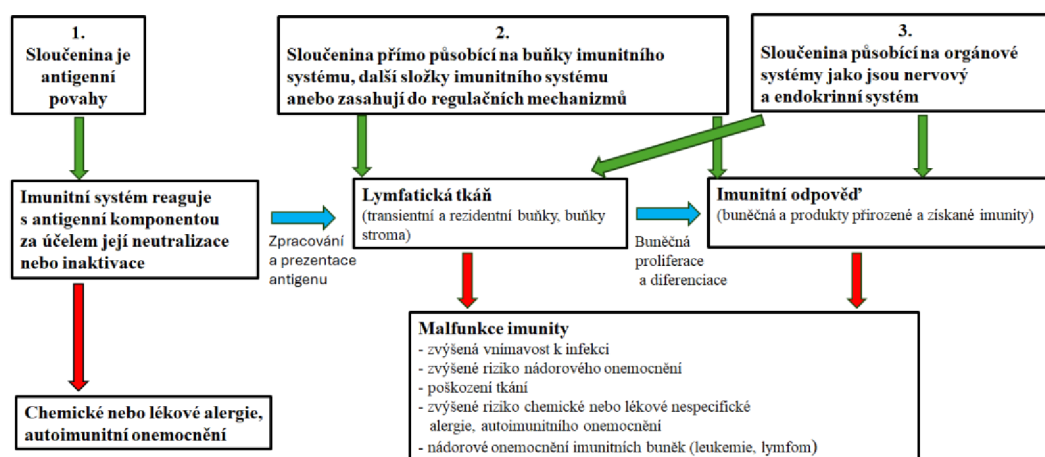
U hlodavců jsou z lymfatických tkání výrazně viditelné shluky lymfatické tkáně nacházející se v tenkém střevě a označovány jako Peyeroovy plaky (Ward et al., 2018). Peyeroovy plaky (Obrázek 1.8) jsou makroskopické oválné nebo protáhlé útvary shlukujících se lymfatických nodulů (Junqueira et Carneiro, 2005) náhodně rozmístěné v sliznici (mukóze) a podslizničním vazivu (submukóze) gastrointestinálního traktu (Schuurman et al., 1994). Velikost, počet, umístění a složení těchto útvarů se může druhově nebo geneticky lišit (Cesta, 2006a).



Obrázek 1.8: a) Peyerovy plaky v tenkém střevě potkanů (převzato: Hryn 2018). b) Histologický řez Peyerovým plakem potkana (převzato: Cesta 2006a). FAE – epitel asociovaný s nodulem; F – lymfatický nodulus; IFR – interfolikulární oblast; GC – germinální centrum

Peyerovy plaky jsou tvořeny skupinou lymfatických nodulů, krytých specializovaným epitelem, ve kterém jsou přítomny M buňky (Cesta, 2006a; Newberry, 2008). Lymfatické noduly jsou vzájemně odděleny T dependentní oblastí, ve které se mimo T-lymfocytů, nachází také makrofágy a dendritické buňky. V této oblasti se vyskytují také lymfatické siny (Eurell et Frappier, 2006). U myši je Peyerových plaků v lačníku více než v ileu a u potkanů je tomu naopak. U potkanů se nachází dva velké, výrazně viditelné agregované lymfatické noduly ve vzestupném a sestupném tračníku a také na vrcholu slepého střeva, strukturálně podobné Peyerovým plakům. Hlodavci nemají mandle, ale mají dobře formovanou lymfatickou tkáň v dutině nosní (NALT). Lidé a myši obvykle nemají lymfatickou tkáň spojenou s průduškami (BALT), ačkoliv u myši z některých vzácných chovů se může objevit. Potkani mají BALT vždy formován. BALT patří mezi terciální lymfatické tkáně, které jsou nejčastěji vyvolány infekcemi a imunitně zprostředkovanými onemocněními v tkáních, kde se lymfatické buňky normálně nenacházejí (Ward et al., 2018).

2 Mechanismy působení toxických látek na imunitní systém



Obrázek 2.1: Mechanismy působení toxických látek na imunitní systém (převzato: Ruehl-Fehlert, 2018)

Obrázek 2.1 demonstruje mechanismy působení toxických látek na imunitní systém. Účinek dané látky se odvíjí od chování (působení) sloučeniny v organismu, nebo spíše od vnímání její podstaty imunitním systémem. Sloučeniny se dělí do třech typů kategorií. Některé sloučeniny se mohou chovat jako antigeny, v tomto případě se je imunitní systém bude snažit neutralizovat nebo inaktivovat tvorbou protilátek. To může vést k chemickým nebo lékově specifickým alergiím či autoimunitním onemocněním. Dalším typem mohou být sloučeniny, které ovlivňují buňky imunitního systému nebo jeho regulační mechanismy. Takové sloučeniny například změny povrch buněk, způsobí narušení syntézy DNA, proteinů, ovlivnění signálních drah, narušení membránové signalizace a celkové homeostázy organismu. Výsledkem toho mohou být různé poruchy imunity, jako je zvýšená náchylnost k infekci, zvýšené riziko rakoviny, poškození tkání a další. Posledním typem jsou sloučeniny, které ovlivňují nervový nebo endokrinní systém. Může se jednat o toxikanty strukturou blízké hormonům, nebo látky schopné konjugace s příslušným endokrinním proteinem. Takový vliv má dopad i na imunitní systém, protože tyto tři systémy jsou si vzájemně blízce propojeny. Následky této skupiny mohou být obdobné jako u předchozí (Ruehl-Fehlert, 2018).

3 Bisfenol S a jeho vlastnosti

Bisfenol S (BPS) [4,4'-sulfonyldifenol; C₁₂H₁₀O₄S] je bezbarvou pevnou látkou, která ve vodě vytváří jehlicovité krystaly. Teplota tání je 245-250 °C. Molární hmotnost činí 250,27 g/mol. Rozpustnost této látky ve vodě je 1100 mg/l a je dobře rozpustná v ethanolu. Hustota činí 1,3663 g/cm³ (Pivnenko et al., 2015). Poprvé byl BPS syntetizován v roce 1869 jako analog BPA. V té době se používal jako součást barviv. Dnes je využit v běžných spotřebních výrobcích (Glausiusz, 2014). BPS byl detekován v různých vzorcích z životního prostředí (voda, půda, sedimenty) a lidských vzorcích (moč, krev, mateřské mléko, folikulární tekutina) (Pan et al., 2023; Szubartowski et Tuzimski, 2023; Žalmanová et al., 2023).

3.1 Bisfenol S a imunitní systém

Velké množství vědců ve svých studiích prokázalo účinek BPA na imunitní systém, jako například, že expozice BPA indukuje uvolňování prozánětlivých cytokinů, dysfunkci vrozené imunity nebo zvýšení oxidačního stresu (Aydemir et al., 2018., Shaibi et al., 2022). Výzkumy ohledně působení BPS, který nahradil BPA, jsou zatím nedostatečné.

Zhao (2020) popisuje výzkum sleziny u myši, kterým byl po dobu 56 dní podáván intragastricky BPS a kontrolní skupině olivový olej. Kromě vlivu na slezinu, se zaměřil také na játra, ledviny, srdce a plíce. Výsledky ukázaly velké rozdíly v koeficientech u sleziny mezi skupinou vystavené BPS a kontrolní skupinou. Na dalších pozorovaných orgánech nebyly zjištěny žádné významné rozdíly. U skupiny ošetřené BPS se významně snížil počet buněk bílé pulpy ve srovnání s kontrolní skupinou, a také vlivem destrukce sleziny byla nejasná hranice červené a bílé pulpy. Jeho zjištění prokázalo, že BPS podporuje vznik splenomegalie, prozánětlivé aktivace a morfologických změn, stejně jako indukuje narušení metabolismu lipidů v imunitních buňkách, které je spojeno s mnoha nemocemi.

Jiný výzkum porovnával toxicitu pro makrofágy u tří bisfenolů – BPA, BPS a BPAF, kdy došel k závěru, že BPS je z nich nejméně toxický. Avšak u všech třech bisfenolů se prokázal vliv na produkci cytokinů/ chemokinů, i když u každého bisfenolu k tomu docházelo při jiné dávce. Při dávce 1 μM všech tří bisfenolů docházelo

u měřených cytokinů k inhibičním procesům, zatímco při dávce 0,1 μM a 10 μM BPA a BPAF se produkce cytokinů zvýšila (Chen et al., 2018).

Více studií se zaměřuje na BPS jako na endokrinní disruptor, kdy se dochází k různým, ne však pozitivním závěrům, jak BPS ovlivňuje reprodukci. S ohledem na jeho pomalejší degradaci v organismu, může působit delší dobu, a tím zasahovat do regulace rozmnožování savců v ještě více nebezpečným způsobem, než bylo prokázáno řadou studií v případě BPA (Žalmanová et al., 2016).

4 Materiál a metody

4.1 Experimentální zvířata

Do studie bylo zařazeno 18 outbredních potkanů kmene Wistar Han. Na základě tělesné hmotnosti byli potkani rozděleni do třech šestičlenných skupin (kontrolní, 4BPS, 50BPS). V průběhu experimentu byli potkani chováni v chovných nádobách po dvou s ad libitním přístupem k pitné vodě a krmivu (ST – 1. Velas s.r.o.). Zvířata byla chována ve standardním světelném režimu (12 hodin světla 12 hodin tma). Manipulace a zacházení se zvířaty bylo v souladu se Zákonem 246/1992 Sb. Všechny úkony byly prováděny v rámci schváleného projektu pokusů (82-2021-P).

4.2 Průběh experimentu

Studie probíhala deset týdnů. Po týdenní aklimatizaci byla experimentálním skupinám zvířat denně podávána prostřednictvím žaludeční sondy různá koncentrace bisfenolu S (4,4'-Sulfonyldiphenol), $O_2S(C_6H_4OH)_2$, Sigma Aldrich (103039-100G) rozpuštěného ve slunečnicovém oleji, skupina 4BPS přijímala 4 μg BPS/kg/den a skupina 50BPS přijímala 50 μg BPS/kg/den. Kontrolní skupině byl podáván pouze slunečnicový olej.

4.3 Odběr a zpracování vzorků krve

Pro analýzu hematologických parametrů byla krev získána srdeční punkcí. Odebraná krev byla analyzována pomocí automatického analyzátoru EXIGO (Labtechnik Brno). Z hematologických parametrů byly stanoveny celkový počet leukocytů, procentuální zastoupení granulocytů, lymfocytů a monocytů.

4.4 Odběr vzorků tkání a jejich histologické zpracování

Na konci experimentu (10 týdnů) byla zvířata zvážena (g) a dle platné legislativy usmrcena. Bezprostředně po usmrcení zvířat byla otevřena dutina hrudní, kde byl odebrán vzorek brzlíku, následně vyjmuta slezina z dutiny břišní. Odebrané vzorky tkání byly přikrojeny a vloženy do vzorkovnice s 10% neutrálním pufrovaným formalínem

(Bamed s.r.o.). Prefixované vzorky tkání byly zpracovány pomocí multifunkčního tkáňového procesoru KOS. Prosycené vzorky byly zalaty do bloků a následně vytvořeny histologické řezy o síle 4 μm . Získané řezy byly inkubovány přes noc při teplotě 37 °C a následně obarveny hematoxylinem a eozinem (HE) (Tabulka 4.1) a byl proveden průkaz polysacharidů (PAS) (Tabulka 4.2).

Histopatologické vyšetření bylo provedeno pomocí optického mikroskopu Leica DM2500. Fotografie histologických řezů byly pořízeny digitální kamerou Leica DFC320 a softwarem Leica IM500 (Version 4.0).

4.5 Hmotnostní a morfometrická analýza

Hmotnost, délka a šířka byla sledována pouze u sleziny. Po vyjmutí z těla byla slezina zvážena na analytických vahách a pomocí měřidla změřena její šířka a délka. Ze zjištěné tělesné hmotnosti byla vypočítána relativní hmotnost tohoto orgánu dle vzorce:

$$\frac{\text{hmotnost orgánu (g)}}{\text{tělesná hmotnost (g)}} \times 100.$$

4.6 Statistická vyhodnocení

Získaná data hmotnostních, metrických a hematologických parametrů byla zpracována analýzou rozptylu (ANOVA) s následným mnohorozměrným porovnáním pomocí Tukeyova HSD testu v programu Statistika 10 (StatSoft. Inc.). Statistická průkaznost byla akceptována na hladině významnosti $P < 0,05$.

Tabulka 4.1: Postup barvení hematoxylin-eozin

Pořadí	Chemikálie	Čas (min.)
1	Xylen	10
2	Xylen	10
3	Xylen	10
4	Xylen:100% etanol (1:1)	5
5	100% etanol	5
6	100% etanol	5
7	96% etanol	5
8	96% etanol	5
9	70% etanol	5
10	50% etanol	5
11	Oplach H ₂ O	5
12	Destilovaná H ₂ O	5
13	Mayerův hematoxylin	8
14	Teplá kohoutková H ₂ O	10
15	Destilovaná H ₂ O	5
16	Eozin Y	1
17	80% Etanol	0,5
18	96% etanol	0,5
19	100% etanol	0,5
20	100% etanol	0,5
21	MicroClearing	1
22	MicroClearing	1
23	Diamount	

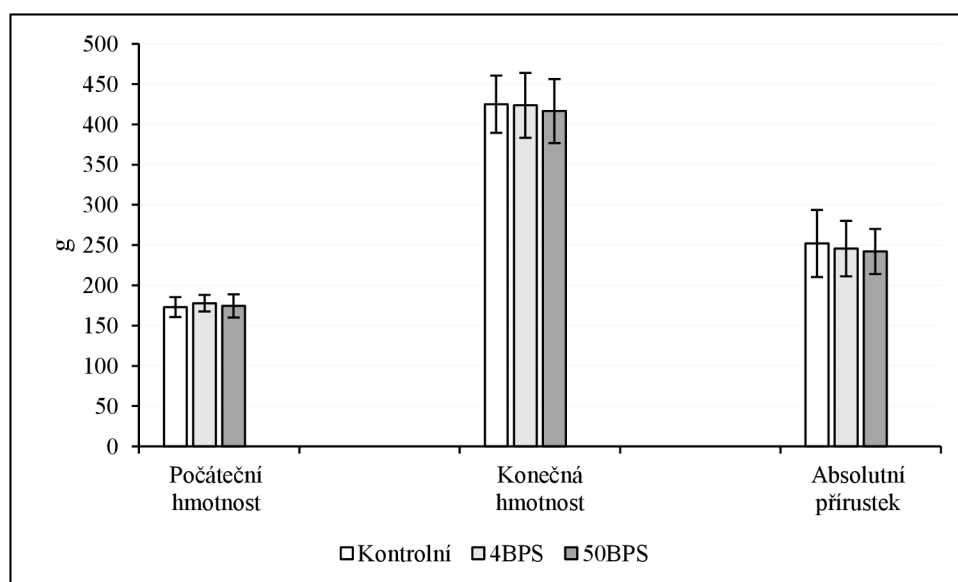
Tabulka 4.2: Postup průkazů polysacharidů (PAS)

Pořadí	Chemikálie	Čas (min.)
1	Xylen	10
2	Xylen	10
3	Xylen	10
4	Xylen:100% etanol (1:1)	5
5	100% etanol	5
6	100% etanol	5
7	96% etanol	5
8	96% etanol	5
9	70% etanol	5
10	50% etanol	5
11	Oplach H ₂ O	5
12	Destilovaná H ₂ O	5
13	Inkubace 60 °C 2% kyselina jodistá	3
14	Destilovaná H ₂ O	1
15	Inkubace 30 °C Schiffovo reagens	3
16	Kohoutková H ₂ O-teplá	10
17	Oplach destilovaná H ₂ O	1
18	Mayerův hematoxylin	8
19	Kohoutková H ₂ O-teplá	8
20	80% etanol	3
21	96% etanol	3
22	96% etanol	3
23	100% etanol	5
24	Micro Clearing	5
25	Diamount	

5 Výsledky a diskuse

5.1 Dopad alimentární expozice BPS na tělesnou hmotnost potkanů

Tělesná hmotnost představuje jeden z hlavních ukazatelů celkového zdravotního stavu zvířat (Skledar et Mašič, 2016). Wang et al. (2019) uvádí významnost tohoto parametru i při toxikologických studiích (Wang et al., 2019). Velké množství chemických látek narušuje metabolické procesy v organismu, jež se odráží v úbytku nebo naopak vzestupu tělesné hmotnosti. U BPA byl prokázán obezogení účinek u různých modelových zvířat (Oliviero et al., 2022). Obezogení účinek byl doložen také i u analogů BPA, jako je bisfenol P, u kterého autoři Zhang et al. (2023) prokázali narušení metabolických drah v játrech a zvýšené ukládání viscerálního tuku. Rovněž u BPS byl prokázán obezogení účinek, avšak ne jednoznačně. Studie Ullah et al. (2016) a Mao et al. (2021), neprokázali staticky významné rozdíly v tělesné hmotnosti samců potkanů exponovaných 50 µg BPS /kg živé hmotnosti/den oproti kontrolní skupině. Shodné výsledky uvádí i Ročeňová (2023) u samic potkanů, exponovaných stejné dávce BPS a délce expozice. Zvýšenou tělesnou hmotnost po expozici BPS zjistili autoři Mornagui et al. (2022), jednalo se však o jiné modelové zvíře (myš) a dvojnásobně vyšší expoziční dávku (100 µg BPS/kg živé hmotnosti/den).



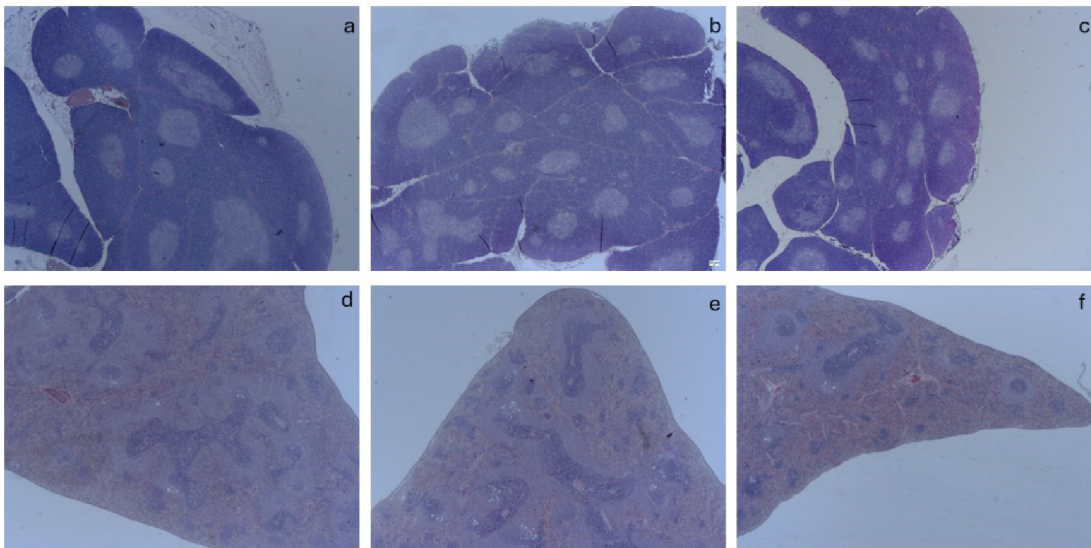
Obrázek 5.1: Hmotnostní parametry zvířat exponovaných BPS

Na obrázku 5.1 jsou zobrazeny počáteční a konečné tělesné hmotnosti potkanů. Z grafu je zřejmé, že bez rozdílu skupin došlo na konci experimentu k významnému

nárustu tělesné hmotnosti. U exponovaných skupin BPS byly na konci experimentu zjištěny pouze nepatrně nižší tělesné hmotnosti oproti kontrolní skupině. Nejnižší hmotnost ($416,50 \pm 39,78$ g) byla u skupiny 50BPS. Přestože pokles hmotnosti nebyl signifikantní, lze ze získaných dat pozorovat náznak trendu poklesu tělesné hmotnosti se zvyšující se dávkou BPS. Podobně tomu bylo i v případě absolutního přírůstku. Nejvyšší absolutní přírůstek byl u kontrolní skupiny ($251,98 \pm 41,68$ g) a naopak nejnižší u skupiny 50BPS ($242,05 \pm 28,02$). Zjištěné výsledky jsou tedy ve shodě s výše uvedenými údaji Ullah et al. (2016), Mao et al. (2021) a Ročeňová (2023).

5.2 Účinek BPS na brzlík

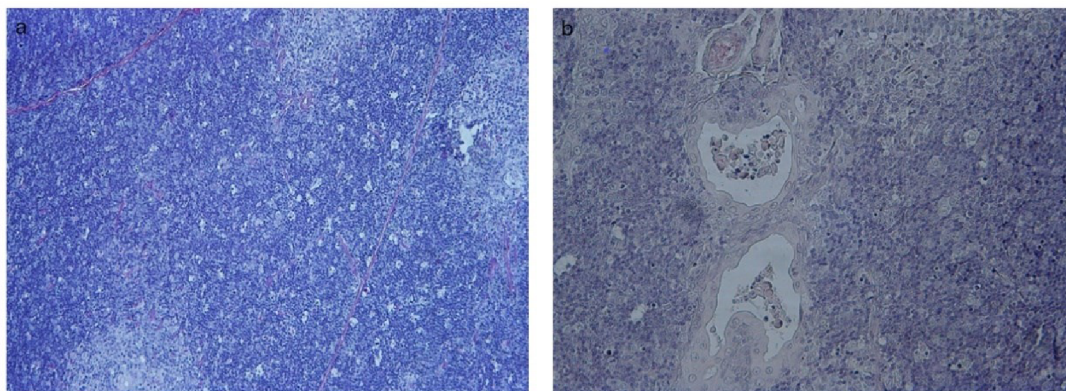
Brzlík (thymus) je primární lymfatický orgán, ve kterém dochází k diferenciaci a maturaci progenitorových buněk (Elmore, 2006; Farley et al., 2013; Aydemir et al., 2018). Schuurman et al. (1992) uvádí, že je brzlík velmi citlivým cílovým orgánem, různých imunotoxických látek a endogenních kortikosteroidních hormonů. Na obrázku 5.2 a,b,c jsou zobrazeny histologické řezy brzlíky kontrolní a experimentálních skupin (4BPS a 50BPS).



Obrázek 5.2: Histologická struktura tymu (a,b,c) a sleziny (d,e,f) kontrolní a experimentálních skupin

Brzlík kontrolní skupina (a); skupina 4BPS (b); skupina 50BPS (c), HE, obj. 2,5. Tmavě modré zbarvení – kůra, světlé oblasti – dřev tytu. Slezina kontrolní skupina (d); skupina 4BPS (e); skupina 50BPS (f), HE, obj. 2,5. Tmavě zbarvená oblast – bílá pulpa, světle modré zbarvení – výrazná marginální zóna, prázdné prostory – skupiny lipocytů.

Mezi jednotlivými skupinami jsme neshledali rozdíly v histologické stavbě brzlíků. U všech skupin byl brzlík pokryt vazivovým pouzdem, s jasně patrnou hranicí kůry a dřevě. Jak ve skupině kontrolní, tak ve skupinách experimentálních v některých lalocích brzlíku převládala kůra nad dřeví, v dalších naopak dřev nad kůrou a v dalších byla přítomna kůra se dřeví přibližně ve stejném poměru (Obrázek 5.2 a,b,c). U všech skupiny jsme v kůře pozorovali apoptotické buňky fagocytované makrofágy (Obrázek 5.3a). Pouze u jednoho jedince skupiny 4BPS byly přítomny cystické dilatace s buňkami v lumen (Obrázek 5.3b).



Obrázek 5.3: Histologická struktura brzlíku

a) Kůra tymu skupiny 4BPS s přítomností apoptotických buněk a fagocytujících makrofágů (*starry sky*), PAS, obj. 10. b) Cystické dilatace v tymu skupiny 4BPS, HE, obj. 20.

Depleci lymfocytů v kůře tymu, která se uvádí při působení některých toxických látek jsme nepozorovali (Raffray et Cohen 1993, Yaglova et al. 2022). Z uvedeného vyplývá, že expozice BPS vybranými dávkami, nevedla k poškození tohoto orgánu. Studie věnující se působení BPS na histologii brzlíku nejsou v současné době dostupné a v případě mnohem více užívaného BPA tomu není téměř jinak. Dopadem BPA se zabývali autoři Aydemir et al. (2018) a Yang et al. (2008), kteří po prenatální expozici různými koncentracemi BPA neshledali patologické změny v brzlíku potkanů. Naše získané výsledky jsou tedy ve shodě se studiemi uvedených autorů.

5.3 Účinek BPS na slezinu

Slezina je místem přímé anebo nepřímé toxicity. Rovněž je cílový orgán některých karcinogenů a také místem metastáz zhoubných novotvarů (maligních neoplazií) vznikajících na jiných místech (Suttie, 2006). Guo et White (2010) uvádí, že toxické látky mohou vést jednak k přímému poškození buněk sleziny (cytolitický efekt) nebo redukcí jejich počtu zprostředkovaně skrze endogenní substance jako jsou glukokortikoidy z nadledvin. Na druhé straně toxické látky mohou vyvolat proliferaci těchto buněk, což vede ke zvýšení počtu těchto buněk. Oboje se zpravidla odrazí v absolutní či relativní hmotnosti anebo ve velikosti tohoto orgánu. Luster et al. (1992) však uvádí, že hmotnost sleziny je relativně necitlivým ukazatelem imunotoxicity. Aby hmotnost sleziny souvisela s imunotoxicitou měla by být dána do souvislosti s histopatologickými změnami a expoziční dávkou použité látky.

V tabulce 5.1 jsou zobrazeny hmotnostní a metrické parametry sleziny kontrolní a experimentálních skupin exponovaných BPS a na obrázcích 5.2. (d,e,f) histologické řezy slezinou.

Tabulka 5.1: Průměrná absolutní a relativní hmotnost sleziny a její délkové rozměry

Skupina	Slezina			
	Absolutní hmotnost (g)	Relativní hmotnost	Délka (cm)	Šířka (cm)
Kontrolní	0,77 ± 0,05	0,18 ± 0,02	4,18 ± 0,31	0,92 ± 0,08
4BPS	0,78 ± 0,10	0,19 ± 0,03	4,05 ± 0,18	0,93 ± 0,06
50BPS	0,70 ± 0,07	0,17 ± 0,01	3,90 ± 0,18	0,94 ± 0,05

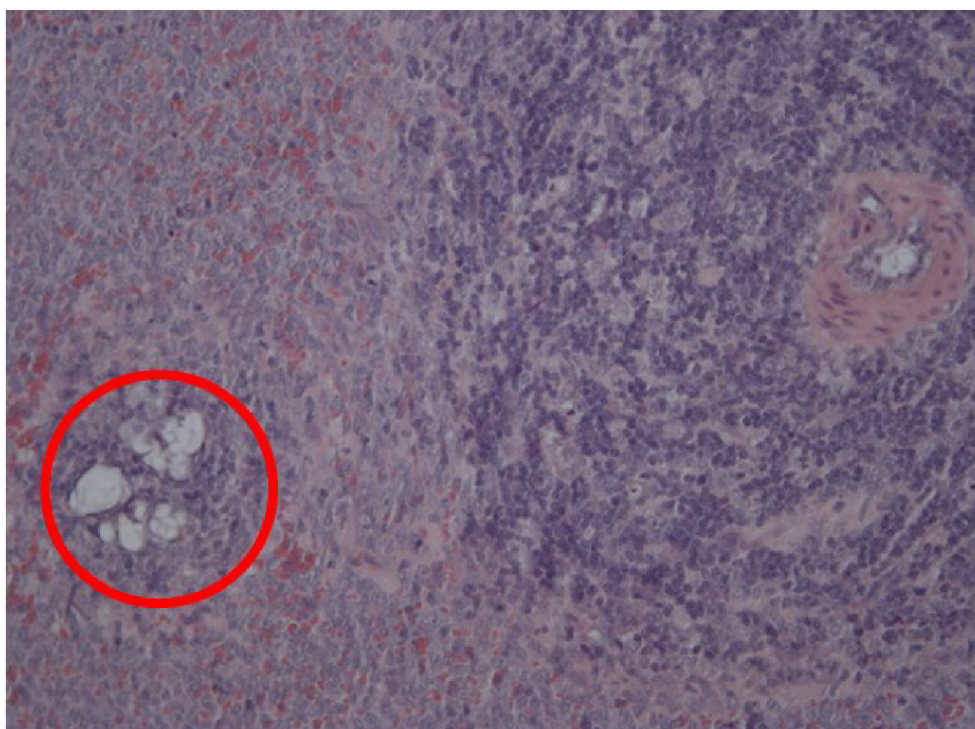
Nejvyšší absolutní a relativní hmotnost sleziny byla zjištěna u skupiny 4BPS, naopak nejnižší u skupiny 50BPS. Mezi kontrolní skupinou a skupinou 4BPS se jednalo pouze o 1,30% rozdíl v absolutní hmotnosti a 5,56% rozdíl v relativní hmotnosti. Průměrná absolutní hmotnost sleziny skupiny 50BPS byla oproti kontrolní skupině o 9,00 % nižší a v případě relativní hmotnosti o 5,56 %. Zajímavé je, že vyšší rozdíl byl zjištěn mezi experimentálními skupiny. Absolutní hmotnost sleziny skupiny 50BPS byla o 10,26 % nižší oproti skupině 4BPS a relativní hmotnosti o 10,53 %. Zjištěné metrické údaje zcela nekorespondují s hmotností sleziny. Nejdelší slezina byla zjištěna u kontrolní skupiny, a se zvyšující dávkou došlo ke zkrácení její délky, opačný trend byl shledán v případě šířky sleziny. Jak metrické, tak hmotnostní parametry sleziny se nacházely v rozmezí uváděném Knotek et Míšek (1999) a Treuting et al. (2017).

Podobně jako v případě brzlíku studie zabývající se dopadem BPS na slezinu jsou v současné době v literárních zdrojích značně limitované. Dostupné jsou nečetné studie zabývající se dopadem analogem BPS, bisfenolem A. Shaibi et al. (2022) ve svém experimentu provedeném na tři týdenních myších, při intraperitoneální aplikaci nízké dávky BPA (50 µg BPA /kg) ve slunečnicovém oleji po dobu 6 týdnů, zjistili, že expozice BPA vedla ve slezině ke zvýšení počtu germinativních center v lymfatických nodulech bílé pulpy, s minimálním počtem apoptotických buněk, spolu s výraznou histiocytární infiltrací červené pulpy. Basit et al. (2020) po 12týdenní expozici potkanů

kmene Wistar s expoziční dávkou 10 mg BPA/kg tělesné hmotnosti, popisuje dilataci splenických sinů, vakuolizaci v červené pulpě, depopulazici bílé pulpy, aktivaci lymfatických nodulů, a zvýšenou akumulaci hemosiderinu, jak v červené, tak v bílé pulpě. Podobné histopatologické změny popisuje Ahmed et al. (2015) při patnácti násobně vyšší expoziční dávce. Fokální nekrózu popisují Dawoud et al. (2009) ve slezině myši po šestitýdenní expozici BPA (25000 mg/kg diety). Dong et al. (2013) zjistili, že BPA vede k narušení aktivity antioxidantních enzymů a zvýšení hladiny malondialdehydu, proto se domnívají, že mechanismem vzniku histopatologických změn ve slezině, je lokálním zvýšení oxidativního stresu.

Studie týkající se dopadu expozice BPS na slezinu je dostupná pouze jedna, která byla provedena na myším modelu autory Zhao et al. (2020). Jednalo se konkrétně o 56denní expozici BPS, kdy byl BPS podáván podobně jako v našem případě pomocí žaludeční sondy (orální gaváže), avšak o nižší (10 µg BPS/kg tělesné hmotnosti/ den) respektive vyšší koncentraci (100 µg BPS/kg tělesné hmotnosti/ den). Výsledky této studie ukazují na podobný účinek BPS jako u BPA. Expozice BPS vedla dle autorů, zejména ke změnám v bílé pulpě sleziny. Jednalo se o nezřetelné oddělení bílé a červené pulpy, lymfocytodepleci v periarteriálních lymfatických pláštích a snížení počtu lymfatických nodulů. Uvedené změny sleziny byly pozorovány zejména u skupiny zvířat s vyšší dávkou BPS tedy 100 µg BPS/kg tělesné hmotnosti/ den. Naše výsledky nejsou ve shodě s uvedenou studií. Jak ve slezině kontrolní, tak i skupin exponovaných BPS, byla slezina pokryta vazivovým pouzdrém přibližně stejné síly, dobře oddělena bílá a červená pulpa, s výraznou marginální zónou (Obrázek 5.2 d,e,f).

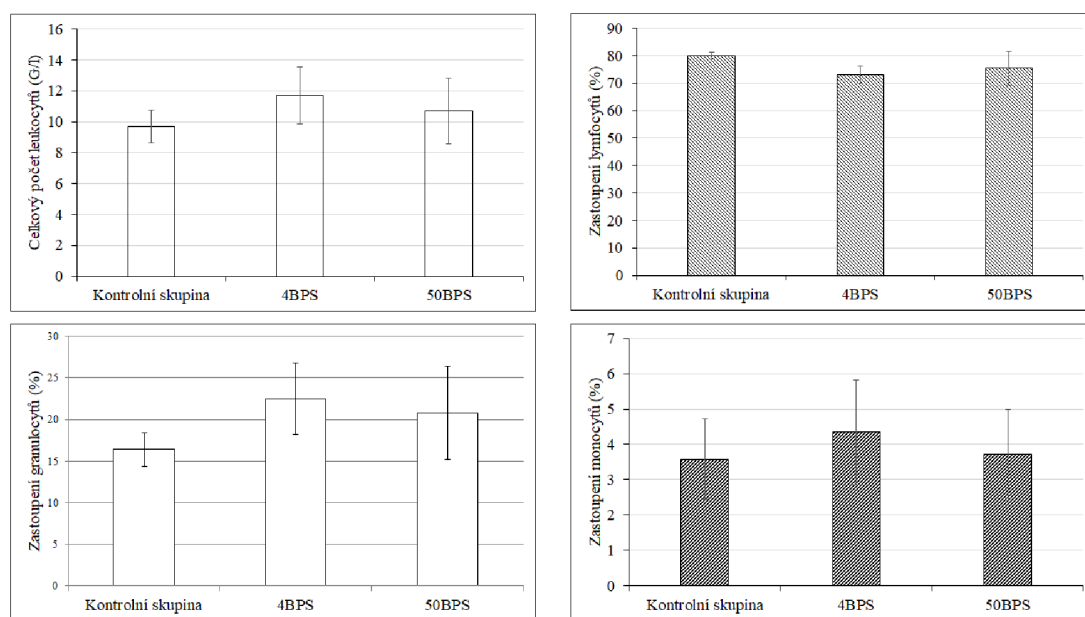
Při chronických toxikologických anebo karcinogenních studiích se popisuje lipomatóza sleziny, která je charakterizována přítomností dobře diferencovaných lipocytů v parenchymu sleziny (Willard-Mack et al., 2019). Shluky lipocytů v intersticiu sleziny jsme zaznamenali ve slezině potkanů bez rozdílu skupin (Obrázek 5.4).



Obrázek 5.4: Histologický řez slezinou kontrolní skupiny

Shluky lipocytů (červený kruh) v intersticiu sleziny, HE., obj. 20.

Vhledem k neprokázání histologických změn ve slezině, a naopak zjištění Shaibi et al. (2022), kdy expozice BPA vedla ke zvýšení počtu monocytů a lymfocytů v periferní krvi a skutečnosti, že leukocytóza vede k zvýšení hmotnosti sleziny (Resendez et Rehagen 2013) respektive změny lymfatických orgánů se mohou odrazit změnami v počtu leukocytů v periferní krvi (de Porto et al. 2010) jsme se v naší studii zaměřili také na hematologické parametry (Obrázek 5.5).



Obrázek 5.5: Hematologické parametry potkanů

Veškeré analyzované hematologické parametry se nacházely v referenčním rozmezí hodnot pro daný kmen potkanů, věkovou kategorií a stáří (Giknis et Clifford 2008). Z obrázku 5.5 je zřejmé, že u skupin exponovaných zvířat BPS došlo k mírnému, ne-signifikantnímu vzestupu celkového počtu leukocytů, poklesu procentuálního zastoupení lymfocytů, naopak k zvýšení počtu granulocytů a monocytů. Přičemž mimo zastoupení lymfocytů byly vyšší hodnoty zjištěny u skupiny s nižší expoziční dávkou BPS (4 μg BPS/kg/den). U této skupiny byla rovněž zjištěna i vyšší relativní i absolutní hmotnost sleziny (Tabulka 5.1). Vlivem BPS na hematologické a biochemické parametry u potkanů se zabýval Pal et al. (2017). Výsledky jejich studie poukazují na negativní vliv BPS na celkový počet leukocytů, a to s rostoucí koncentrací BPS. Autoři zjistili, že při zvyšující se expoziční dávce dochází k signifikantnímu poklesu celkového počtu leukocytů. Jak je výše uvedeno v naší studii jsme však zjistili vzestup celkového počtu leukocytů u skupin exponovaných BPS, a to zejména u nižší expoziční dávky. Rozdílné výsledky mohou být z důvodu odlišných expozičních dávek, kdy ve studii Pal et al. (2017) byly použity výrazně vyšší expoziční dávky na úrovni 30, 60, 120 mg BPS/ kg tělesné hmotnosti/ den.

Závěr

Předložená bakalářská práce sledovala vliv chronické expozice nízkých koncentrací bisfenolu S (4 μg , 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ živé hmotnosti/den) na tělesnou hmotnost, absolutní přírůstek, histologickou stavbu thymu a sleziny, hmotnostní a metrické parametry sleziny a také vybrané hematologické parametry samců potkanů kmene Wistar Han.

Získané výsledky lze shrnout do následujících bodů:

- se zvyšující se koncentrací BPS došlo k mírnému statisticky nevýznamnému poklesu tělesné hmotnosti a absolutního přírůstku.
- expozice BPS nevyvolala histopatologické změny brzlíku a sleziny
- expozice BPS nevedla ke statisticky významným změnám absolutní a relativní hmotnosti sleziny
- expozice BPS neovlivnila statisticky významně délku a šířku sleziny
- expozice BPS nezpůsobila statisticky významné změny v celkovém počtu leukocytů a procentuálního zastoupení monocytů, lymfocytů, granulocytů.

Dosažené výsledky nepotvrdily námi stanovenou hypotézu.

Seznam použité literatury

- Ahmed, W. M., Moselhy, W. A., Nabil, T. M. (2015). Bisphenol A toxicity in adult male rats: hematological, biochemical and histopathological approach. *Global Veterinaria*, 14: 228–238.
- Arnon, T., I., Horton, R., M., Grigorova, I., L., Cyster, J., G. (2013). Visualization of splenic marginal zone B-cell shuttling and follicular B-cell egress. *Nature*, 493: 684–688, doi: 10.1038/nature11738.
- Aydemir, I., Kum, Ş., Tuğlu, M. İ. (2018). Histological investigations on thymus of male rats prenatally exposed to bisphenol A. *Chemosphere*, 206: 1–8, doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.04.145.
- Bacha, J. JR. a Bacha, L., M. (2012). *Color Atlas of Veterinary Histology*. 3rd edition, Wiley-Blackwell, Hoboken, 356 p. ISBN: 9780470958513.
- Balko, J., Tonar, Z., Varga, I. (2021). *Memorix histologie*. Druhé vydání. Triton, Praha, 555 s. ISBN 9788075538741.
- Banks, W. J. (1993). *Applied veterinary histology*. 3rd edition. Mosby-YearBook, St. Louis, 527 p. ISBN 0801666104.
- Basit, F., Akhtar, T., Hameed, N., Abbasi, M. H., Sheikh, N. (2020). Subchronic toxicity of bisphenol A on the architecture of spleen and hepatic trace metals and protein profile of adult male Wistar rats. *Human & experimental toxicology*, 39(10):1355–1363, doi: 10.1177/0960327120921440.
- Bienenstock, J. a Clancy, R. L. (2005) Bronchus-associated lymphoid tissues. In: Messtecky., J., Bienenstock, J., Lamm, M., Mayer, L., McGhee, J. R., Strober, W. (Eds.), *Mucosal immunology*, 3rd edition. Academic Press, San Diego, pp. 375–384.
- Bolliger, A. P. (2004). Cytologic evaluation of bone marrow in rats: indications, methods, and normal morphology. *Veterinary Clinical Pathology*, 33(2):58–67.
- Brelinska, R., Kaczmarek E., Warchol J.B., Jaroszowski J. (1985). Distribution of different cell types within the rat thymus in the neonatal period of life. *Cell Tissue Res.*, 240: 473-478.
-

-
- Brown, K., Sacks, S.H., Wong, W. (2011). Tertiary lymphoid organs in renal allografts can be associated with donor-specific tolerance rather than rejection. *European Journal of Immunology*, 41: 89–96.
- Buc, M. (2001). *Imunológia*. První vydání. Veda, Bratislava. ISBN: 80-224-0667-8.
- Cesta, M. F. (2006a). Normal structure, function, and histology of mucosa-associated lymphoid tissue. *Toxicologic Pathology*, 34(5):599–608.
- Cesta, M. F. (2006). Normal structure, function, and histology of the spleen. *Toxicologic Pathology*, 34(5):455–465.
- Dabak, D. O. a Ozturk, G. (2003). Antigen-induced changes on high endothelial venules in rat cervical lymph nodes. *Lymphology*, 36(2):62–68.
- Dawoud, A. S., Mansy, S. S., Omar, N. A. (2009). Clinicopathological studies on the effect of Bisphenol-A oral administration on leukocytes of Swiss albino mice. *Egyptain Journal of Comparative Pathology and Clinical Pathology*, 22(1):74–96.
- de Porto, A. P., Lammers, A. J., Bennink, R. J., Berge, I. J., Speelman, P., Hoekstra, J. B. (2010). Assessment of splenic function. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases. Official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 29(12):1465–1473, doi: 10.1007/s10096-010-1049-1.
- Dong, Y., Zhai, L., Zhang, L. (2013). Bisphenol A impairs mitochondrial function in spleens of mice via oxidative stress. *Molecular & Cellular Toxicology*, 9(4):401–406.
- Elmore, S. A. (2006). Enhanced histopathology of the thymus. *Toxicologic pathology*, 34(5):656–665, doi: 10.1080/01926230600865556.
- Eurell, A. J. a Frappier, B. L. (2006). *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. 6th edition. Wiley-Blackwell, Hoboken, 416 p. ISBN 0781741483.
- Farley, A. M., Morris, L. X., Vroegindeweij, E., Depreter, M. L., Vaidya, H., Stenhouse, F. H., Tomlinson, S. R., Anderson, R. A., Cupedo, T., Cornelissen, J. J., Blackburn, C. C. (2013). Dynamics of thymus organogenesis and colonization in early human development. *Development (Cambridge, England)*, 140(9):2015–2026, doi: 10.1242/dev.087320.
- Földi, M. a Földi, E. (2014). *Lymfologie*. Sedmé vydání. Grada Publishing, Praha, 720 s. ISBN 978-80-247-4300-4.
-

Giknis, M.L.A., Clifford, C.B. (2008). *Clinical laboratory parameters for Crl:WI (Han)*. Charles River Laboratories, Wilmington, Massachusetts, p. 1-17.

Glausiusz, J. (2014). Toxicology: The plastics puzzle. *Nature*, 508(7496): 306–308.

Gordon, S., Plüddemann, A., Martinez Estrada, F. (2014). Macrophage heterogeneity in tissues: phenotypic diversity and functions. *Immunology Review*, 262(1):36–55, doi: 10.1111/imr.12223.

Gormley, P. D., Powell-Richards, A. O., Azuara-Blanco, A., Donoso, L. A., Dua, H. S. (1998). Lymphocyte subsets in conjunctival mucosa-associated-lymphoid-tissue after exposure to retinal-S-antigen. *International ophthalmology*, 22(2):77–80.

Guo, T. L., White, K. L. (2010). Methods to Assess Immunotoxicity. In: McQueen, C., A. (Eds.), *Comprehensive Toxicology*. 2nd edition. Elsevier, Amsterdam, pp. 567–590.

Haley, J. P. (2017). The lymphoid system: a review of species differences. *Journal of Toxicologic Pathology*, 30(2):111–123.

Haschek, W. M., Wallig, M. A., Rousseaux, C. G. (2009). *Fundamentals of toxicologic pathology*. 2nd edition. Academic Press, London, 714 p. ISBN 978-0-12-370469-6.

Helft, J., Anjos-Afonso, F., van der Veen, A. G., Chakravarty, P., Bonnet, D., Reis e Sousa, C. (2017). Dendritic Cell Lineage Potential in Human Early Hematopoietic Progenitors. *Cell Reports*, 20(3):529–537, doi: 10.1016/j.celrep.2017.06.075.

Hendricks, J., Visser, A., Dammers, P. M., Burgerhof, J. G., Bos, N. A., Kroese, F. G. (2011). Class-switched marginal zone B cells in spleen have relatively low numbers of somatic mutations. *Molecular immunology*, 48(6-7):874–882, doi: 10.1016/j.molimm.2010.12.020.

Heneberg, P. (2010). Svalovec zneužívá k přežití eozinofily. *Vesmír*, 89(2):82.

Hořejší V. a Bartůňková J. (2002). *Základy imunologie*. Druhé vydání. TRITON, Praha, 260 s. ISBN 807254215X.

Hořejší, V. (2014). Neutrofilní granulocyty bojují proti nádorům. *Vesmír*, 93(2):203–204.

Hořejší, V. (2015). Makrofágy jako pomocníci nádorů. *Vesmír*, 94(2):319

Hořejší, V. (2016). Imunitní zbraně. *Vesmír*, 95(10):590-591.

-
- Hořejší, V. (2016). Poznej nepřítele. *Vesmír*, 95(11):624.
- Hryn, V. (2018). Planimetric correlations between Peyer's patches and the area of small intestine of white rats. *Reports of Morphology*, 24(2):66–72, doi: 10.31393/morphology-journal-2018-24(2) -10.
- Chen, Y., Xu, H. S., Guo T. L. (2018). Modulation of cytokine/chemokine production in human macrophages by bisphenol A: A comparison to analogues and interactions with genistein. *Journal of Immunotoxicology*, 15(1):96–103, doi: 10.1080/1547691X.2018.1476629.
- Chottová Dvořáková, M. a Mistrová, E. (2018). *Fyziologie krve a základy imunity*. První vydání. Karolinum, Praha, 110 s. ISBN: 978-80-246-3833-1.
- Ikegami, R., Tanimoto, Y., Kishimoto, M., Shibata, H. (2016). Anatomical variation of arterial supply to the rabbit spleen. *The Journal of veterinary medical science*, 78(2):199–202, doi: 10.1292/jvms.15-0297.
- Jelínek, F. a Jelínek, K. (2006). *Morfologie hospodářských zvířat*. Druhé vydání. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, České Budějovice, 289 s. ISBN 8070408456.
- Jílek, P. (2019). *Imunologie: stručně, jasně, přehledně*. Druhé vydání. Grada Publishing, a.s., 104 s. ISBN 80-2710-595-1.
- Junqueira, L. C. U. a Carneiro, J. (2005). *Basic histology*. 11th edition. McGraw-Hill Medical, New York, 544 p. ISBN 3-540-21965.
- Kittnar, O. (2020). *Lékařská fyziologie*. Druhé, přepracované a doplněné vydání. Grada Publishing, Praha, 752 s. ISBN 978-80-247-1963-4.
- Knotek, Z. a Míšek, I. (1999). *Chov a využití pokusných zvířat*. První vydání. Společnost pro vědu o laboratorních zvířatech, Brno, 181 s. ISBN 80-85114-69-0.
- Kuper C. F. (2006). Histopathology of mucosa-associated lymphoid tissue. *Toxicologic pathology*, 34(5): 609–615, doi: 10.1080/01926230600867735.
- Lów, P., Molnár, K., Kriska, G. (2016). Dissection of the Rat (*Rattus norvegicus*). *Atlas of Animal Anatomy and Histology*, pp. 325–399, doi:10.1007/978-3-319-25172-1_12.
-

-
- Luster, M. I., Portier, C., Pait, D. G., White, K. L., Jr, Gennings, C., Munson, A. E., Rosenthal, G. J. (1992). Risk assessment in immunotoxicology. I. Sensitivity and predictability of immune tests. *Fundamental and applied toxicology: official journal of the Society of Toxicology*, 18(2): 200–210, doi: 10.1016/0272-0590(92)90047-1.
- Mao, L. L., Fang, S. H., Zhao, M. R., Liu, W. P., Jin, H. B. (2021). Effects of bisphenol A and bisphenol s exposure at low doses on the metabolome of adolescent male sprague-dawley rats. *Chemical Research in Toxicology*, 34: 1578–1587.
- Marshall, J.S., Warrington, R., Watson, W. (2018). An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 14(2):49, doi: 10.1186/s13223-018-0278-1.
- McGavin M. D. a Zachary J. F. (2007). *Pathologic basis of veterinary disease*. 4th edition. Elsevier Mosby, St. Louis, 1476 p. ISBN 9780323028707.
- Mebius R. E. a Kraal G. (2005). Structure and function of the spleen. *Journal Nature Reviews Immunology*. 5(8): 606–616.
- Mestecky, J., Ogra, P. L., McGhee, J. R., Lamm, M. E., Strober, W., Bienenstock, J., Mayer, L. *Mucosal immunology*. 3rd edition. Elsevier Academic Press, Amsterdam, 2064 p. ISBN 0124915434.
- Morawietz, G., Ruehl-Fehlert, C., Kittel, B., Bube, A., Keane, K., Halm, S., Heuser, A., Hellmann, J. (2004). Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice – Part 3. A joint publication of the RITA and NACAD groups. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 55(6): 433–449, doi: 10.1078/0940-2993-00350.
- Mills, S. E. (2007). *Histology for pathologists*. 3rd edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 1280 p. ISBN 0781762413.
- Mornagui, B., Rezg, R., Neffati, F., Najjar, M. F, Rejeb, A. (2023). Postnatal exposure to Bisphenol S induces liver injury in mice: Possible implication of PPAR γ receptor. *Toxicology and Industrial Health*, 39(5): 237–247, doi:10.1177/07482337231166490.
- Nečas, E. (2021). *Obecná patologická fyziologie*. Páté vydání. Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, Praha, 312 s. ISBN 978-80-246-4633-6.
- Newberry, R. D. (2008). Intestinal lymphoid tissues: Is variety an asset or a liability? *Curr Opin Gastroen*, 24: 121-128.
-

-
- Ohtani, O. a Ohtani, Y. (2008). Structure and function of rat lymph nodes. *Archives of histology and cytology*, 71(2): 69–76, doi: 10.1679/aohc.71.69.
- Oliviero, F., Marmugi, A., Viguié, C., Gayraud, V., Picard-Hagen, N., Mselli-Lakhal, L. (2022). Are BPA Substitutes as Obesogenic as BPA? *International journal of molecular sciences*, 23(8): 4238, doi: 10.3390/ijms23084238.
- Pal, S., Sarkar, K., Nath, P. P., Mondal, M., Khatun, A., Paul, G. (2017). Bisphenol S impairs blood functions and induces cardiovascular risks in rats. *Toxicology Reports*, 4: 560–565, doi: 10.1016/j.toxrep.2017.10.006.
- Pan, Y., Han, L., Chen, X., Wei, X., Zhou, X., Liang, D., Yin, R., Jiao, X., Li, H., Li, A. J., Qiu, R. (2023). Occurrence of emerging bisphenol S analogues in urine from five occupational populations in South China. *Environment International*, 172(2): 107773, doi: 10.1016/j.envint.2023.107773.
- Pearse, G. (2006). Normal structure, function and histology of the thymus. *Toxicologic pathology*, 34(5): 504–514.
- Pecka, M. (2006). *Laboratorní hematologie v přehledu*. První vydání. Finidr, Český Těšín, 304 s. ISBN 80-86682-00-5.
- Petřek, J. (2019). *Základy fyziologie člověka pro nelékařské zdravotnické obory*. Grada Publishing, Praha, 172 s. ISBN 978-80-271-2208-0.
- Pivnenko, K., Pedersen, G. A., Eriksson, E., Astrup, T. F. (2015). Bisphenol A and its structural analogues in household waste paper. *Waste Management*, 44: 39–47.
- Raffray, M. a Cohen, G. M. (1993). Thymocyte apoptosis as a mechanism for tributyltin-induced thymic atrophy in vivo. *Archives of toxicology*, 67(4): 231–236, doi: 10.1007/BF01974341.
- Rebelatto M. (2018). Spleen, lymph nodes, and thymus. In: Suttie A. (Eds.). *Boorman's Pathology of the Rat*. Druhé vydání. Academic Press, Verlag, pp. 469–491, doi: 10.1016/B978-0-12-391448-4.00024-1.
- Resendez, J.C. a Rehagen, D. (2013). Infusion Toxicology and Techniques. In: Faqi, A. S. (Eds.), *A Comprehensive Guide to Toxicology in Preclinical Drug Development*. 2nd edition. Academic Press, Elsevier, Waltham, pp. 277–307.
-

Ročeňová, A. (2023). *Dopad alimentární expozice bisfenolu S na vybrané orgány laboratorních potkanů*. Diplomová práce, Jihočeská univerzita, Fakulta zemědělská a technologická.

Ross, M. H. a Pawlina, W. (2011). *Histology: A text and atlas*. 6th edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 974 p. ISBN 0781772001.

Ruehl-Fehlert, C., Parker, G.A., Elmore, S.A., Kuper, C.F. (2018). Immune System. In: Wallig, A. M., Haschek M. W., Rousseaux C. G., Bolon B. (Eds.): *Fundamentals of Toxicologic Pathology*. 3rd edition. Elsevier, Amsterdam, pp. 273–313. ISBN 9780128098417.

Samuelson, D. A. (2007). *Textbook of veterinary histology*. 1st edition. St. Saunders - Elsevier, Louis. 560 p. ISBN0721681743.

Sasou, S., Satodate, R., Katsura, S. (1976). The marginal sinus in the perifollicular region of the rat spleen. *Cell and tissue research*, 172(2): 195–203, doi: 10.1007/BF00226027.

Shaibi, T., Balug, H. N., Ben-Othman, M. E., Benjama, A. E., Elhensheri, M., Lwaleed, B. A., Al-Griw, M. A. (2022). Exposure to low-dose bisphenol A induces spleen damage in a murine model: Potentially through oxidative stress? *Open veterinary journal*, 12(1): 23–32, doi: 10.5455/OVJ.2022.v12.i1.4.

Sharp, P. a Villano, J. S. (2012). *The Laboratory Rat*. 2nd edition. FL: CRC Press, Boca Raton, 400 p. ISBN: 9781439829868.

Schuurman, H. J., Kuper, C. F., Vos, J. G. (1994). Histopathology of the immune system as a tool to assess immunotoxicity. *Toxicology*, 86(3): 187–212.

Schuurman, H. J., Van Loveren, H., Rozing, J., and Vos, J. G. (1992). Chemicals trophic for the thymus: risk for immunodeficiency and autoimmunity. *International journal of immunopharmacology*, 14(3): 369–375, doi: 10.1016/0192-0561(92)90166-i.

Skledar, D. G. a Mašič, L. P. (2016). Bisphenol A and its analogs: Do their metabolites have endocrine activity? *Environmental toxicology and pharmacology*, 47: 182–199, doi: 1016/j.etap.2016.09.014.

-
- Steiniger, B., Timphus, E., M., Barth, P. J. (2006). The splenic marginal zone in humans and rodents: an enigmatic compartment and its inhabitants. *Histochemistry. Cell Biology*, 126 (6): 641–648.
- Suckow M., Weisbroth S., Franklin C. (2005). *The Laboratory Rat*. 2nd edition. Academic Press, Londýn, 928 p. ISBN: 9780080454320.
- Suttie, A. W. (2006). Histopathology of the Spleen. *Toxicologic Pathology*. 34(5): 466–503, doi: 10.1080/01926230600867750.
- Szubartowski, S. a Tuzimski, T. (2023). A Fast Method for Determination of Seven Bisphenols in Human Breast Milk Samples with the Use of HPLC-FLD. *Molecules*, 28(3): 1432, doi: 10.3390/molecules28031432.
- Šedivá, D. a Stříž, I. (2002). Dendritické buňky a jejich úloha v imunitních reakcích. *Alergie*, 4(2): 133–138.
- Taylor, I. (2014). Lymphoid and haematopoietic systém. In: Scudamore, Ch. L. (Eds.). *A Practical Guide to the Histology of the Mouse*. 1st edition. John Wiley & Sons, New Jersey, pp. 149-168. ISBN 9781119941200.
- Tichý, F., Horký, D., Buchtová, M., Gorošová, A., Kociánová, I., Páral, V., Zibrín, M. (2004). *Histologie – Mikroskopická anatomie*. První vydání. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno. 275 s. ISBN 8073054957.
- Toman, M. (2009): *Veterinární imunologie*. Druhé vydání. Grada Publishing, a.s., Praha. ISBN 978-80-247-2464-5.
- Treuting, P. M., Dintzis, S. M., Montine, K.S. (2017). *Comparative Anatomy and Histology: A Mouse, Rat, and Human Atlas*. 2nd edition. Academic Press, Londýn, 570 p. ISBN: 0128029005.
- Ullah, H., Jahan, S., Ain, Q. U., Shaheen, G., Ahsan, N. (2016). Effect of bisphenol S exposure on male reproductive system of rats: A histological and biochemical study. *Chemosphere*, 152: 383–391, doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.02.125.
- Urb, M. a Sheppard, D. C. (2012). The role of mast cells in the defence against pathogens. *PLoS pathogens*, 8(4):1–3, doi: 10.1371/journal.ppat.1002619.
- Varol, C., Mildner, A., Jung, S. (2015). Macrophages: Development and Tissue Specialization. *Annu Rev Immunol*, 33(3):643–675.
-

-
- Wang, W., Zhang, X., Qin, J., Wei, P., Jia, Y., Wang, J., and Ru, S. (2019). 'Long-term bisphenol S exposure induces fat accumulation in liver of adult male zebrafish (*Danio rerio*) and slows yolk lipid consumption in F1 offspring'. *Chemosphere*, 221: 500–510, doi:doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.020.
- Ward, J. M., Cherian, S., Linden, M. A. (2018). Hematopoietic and lymphoid tissues. In: Treuting, P. M., Dintzis, S. M., Montine, K. S. (Eds.): *Comparative Anatomy and Histology*. 2nd edition. Academic Press Inc, Verlag, pp. 365-401. ISBN 978-0-12-802900-8.
- Weill, J. C., Weller, S., Reynaud, C. A. (2009). Human marginal zone B cells. *Annual review of immunology*, 27: 267–285, doi: 10.1146/annurev.immunol.021908.132607.
- Willard-Mack C. L., Elmore S. A., Hall W. C., et al. (2019). Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Hematolymphoid System. *Toxicologic Pathology*, 47(6):665–783, doi:10.1177/0192623319867053.
- Yaglova, N. V., Obernikhin, S. S., Tsomartova, E. S., Yaglov, V. V., Nazimova, S. V., Tsomartova, D. A., Timokhina, E. P., Cheresheva, E. V., Ivanova, M. Y., Payushina, O. V. (2022). Developmental Exposure to Endocrine Disrupter DDT Interferes with Age-Related Involution of Thymus. *International journal of molecular sciences*, 23(12): 6678, doi: 10.3390/ijms23126678.
- Yang, M., Lee, H. S., Pyo, M. Y. (2008). Proteomic biomarkers for prenatal bisphenol A-exposure in mouse immune organs. *Environmental and molecular mutagenesis*, 49(5): 368–373, doi: 10.1002/em.20394.
- Young, B., Lowe, J. S., Stevens, A., Heath, J. W. Deakin, P. J. (2006). *Wheater's functional histology: a text and colour atlas*. 5th edition. Churchill Livingstone Elsevier, Edinburgh, 448 p. ISBN 044306850X.
- Zhang, W., Ma, X., Zhang, Y., Tong, W., Zhang, X., Liang, Y., Song, M. (2023). Obesogenic effect of Bisphenol P on mice via altering the metabolic pathways. *Ecotoxicology and environmental safety*, 253: 114703, doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.114703.
- Zhao, C., Yong, T., Zhang, Y., Jin, Y., Xiao, Y., Wang, H., Zhao, B., Cai, Z. (2020). Evaluation of the splenic injury following exposure of mice to bisphenol S: A mass
-

spectrometry-based lipidomics and imaging analysis. *Environment international*, 135(2): 1–6, doi: 10.1016/j.envint.2019.105378.

Žalmanová, T., Hošková, K., Nevoral, J., Prokešová, Š., Zámotná, K. (2016). Bisphenol S instead of bisphenol A: a story of reproductive disruption by regrettable substitution – a review. *Czech Journal of Animal Science*. 61(10):433–449. ISSN 12121819.

Žalmanová, T., Hošková, K., Prokešová, Š., Nevoral, J., Ješeta, M., Benc, M., Yi, Y. J., Moravec, J., Močáryová, B., Martínková, S., Fontana, J., Elkalaf, M., Trnka, J., Žáková, J., Petr, J. (2023). The bisphenol S contamination level observed in human follicular fluid affects the development of porcine oocytes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11: 1145182, doi: 10.3389/fcell.2023.1145182.

Seznam obrázků

Obrázek 1.1: Brzlík potkana (červený kruh) (převzato: Lów et al., 2016)	15
Obrázek 1.2: Histologický řez brzlíkem potkana (převzato: Perse, 2006),	17
Obrázek 1.3: Slezina potkana (převzato: Morawietz et al., 2004)	18
Obrázek 1.4: Slezina (červený kruh) (převzato: Lów et al., 2016)	19
Obrázek 1.5: Histologický řez slezinou (převzato: Cesta, 2006).....	21
Obrázek 1.6: a) Anatomické rozmístění lymfatických uzlin u potkana (převzato: Ward et al., 2018).....	22
Obrázek 1.7: Schéma histologické stavby mízní uzliny (převzato: Willard-Mac, 2006)	24
Obrázek 1.8: a) Peyerovy plaky v tenkém střevě potkanů (převzato: Hryn 2018). b) Histo-logický řez Peyerovým plakem potkana (převzato: Cesta 2006a).....	26
Obrázek 2.1: Mechanismy působení toxických látek na imunitní systém (převzato: Ruehl-Fehlert, 2018)	27
Obrázek 5.1: Hmotnostní parametry zvířat exponovaných BPS	34
Obrázek 5.2: Histologická struktura tymu (a,b,c) a sleziny (d,e,f) kontrolní a experimentálních skupin.....	36
Obrázek 5.3: Histologická struktura brzlíku	37
Obrázek 5.4: Histologický řez slezinou kontrolní skupiny	40
Obrázek 5.5: Hematologické parametry potkanů.....	41

Seznam tabulek

Tabulka 4.1: Postup barvení hematoxylin-eozin.....	32
Tabulka 4.2: Postup průkazů polysacharidů (PAS)	33
Tabulka 5.1: Průměrná absolutní a relativní hmotnost sleziny a její délkové rozměry	38

Seznam použitých zkratk

ATALT	Lymfoidní tkáň spojená se sluchovou trubicí/ auditory tube-associated lymphoid tissue
BALT	Bronchiální lymfatická tkáň/ bronchial associated lymphoid tissue
BCR	B-buněčný receptor/ B-cell receptor
BPA	Bisfenol A/ bisphenol A
BPS	Bisfenol S/ bisphenol S
GALT	Lymfoidní tkáň spojená se střevem / gut associated lymphoid tissue
MALT	Slizniční lymfatická tkáň/ mucosa associated lymphoid tissue
MHC	Hlavní histokompatibilní systém/ major histocompatibility complex
NALT	Lymfoidní tkáň spojená s nosem / nasal associated lymphoid tissue
PALS	Periarteriální lymfatická pochva / periarterial lymphatic sheath
TAM	Makrofágy asociované s nádory/ tumor associated macrophages
Tc	Cytotoxické T-lymfocyty/ cytotoxic T cell
Th	Pomocné T-lymfocyty/ helper T cell
Treg	Regulační T-lymfocyty/ regulatory T cell
