

# **DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**Dr. Osváth Péter**

**Oxidatív stressz indukálta károsodás megelőzése és  
kezelése a reprodukív- és a kardiális funkció megőrzése  
céljából**

**DEBRECENI EGYETEM TÁPLÁLKOZÁS- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2024**

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**Oxidatív stressz indukálta károsodás megelőzése és  
kezelése a reprodukív- és a kardiális funkció megőrzése  
céljából**

**Dr. Osváth Péter**

**Témavezető: Dr. Szűcs Miklós  
Társtémavezető: Dr. Pósa Anikó**



**DEBRECENI EGYETEM**

**TÁPLÁLKOZÁS – ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2024**

# Tartalomjegyzék

<b>1. Rövidítések jegyzéke</b>	<b>4</b>
<b>2. Bevezetés</b>	<b>7</b>
<b>Irodalmi áttekintés</b>	<b>7</b>
I. A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata	7
II. A paclitaxel és hatásai a szívizomban	10
<b>3. Célkitűzések</b>	<b>13</b>
I. vizsgálat	13
II. vizsgálat	13
<b>4. Anyagok és módszer</b>	<b>14</b>
<b>I. vizsgálat</b>	<b>14</b>
I/a. Vizsgálati csoportok felállítása	14
I/b. A testedzés protokollja	14
I/c. Tesztoszteron szint meghatározás	15
I/d. Ejakulátumgyűjtés	15
I/e. Hialuronsav kötődési vizsgálat (HBA <sup>®</sup> )	15
I/f. Proinflammatorikus citokinek: TNF- $\alpha$ és IL-6 koncentráció meghatározás	16
I/g. A redukált, az oxidált és teljes glutation szint (GSH, GSSG; GSH+GSSG) meghatározása	17
I/h. A mieloperoxidáz enzim aktivitás mérése	17
I/i. Fehérje analízis	18
I/j. Statisztikai analízis	18
<b>II. vizsgálat</b>	<b>19</b>
II/a. Vizsgálati csoportok felállítása	19
II/b. A szív HO-1, NF-kB és TNF- $\alpha$ koncentrációjának meghatározása	20
II/c. A szív teljes glutation (GSH+GSSG) szintjének mérése	20
II/d. A szuperoxid-dizmutáz (SOD) vizsgálata a szívizomszövetben	21
II/e. A szívizom mieloperoxidáz aktivitásának meghatározása	21
II/f. A szív hem-oxigenáz aktivitásának meghatározása	21

II/g. Statisztikai analízis	22
<b>5. Eredmények</b>	<b>23</b>
<b>I. vizsgálat</b>	<b>23</b>
I/a. Változások a szérum tesztoszteron szintekben	23
I/b. Hialuronsav-kötődési vizsgálat	24
I/c. Gyulladásos citokin vizsgálatok	24
1. TNF- $\alpha$ és IL-6 koncentráció meghatározása az ejakulátumban	24
2. A herék TNF- $\alpha$ és IL-6 koncentrációjának mérése	26
I/d. A mieloperoxidáz aktivitás meghatározása	27
I/e. A here és az ejakulátum glutation (GSH+GSSG) tartalmának értékelése	29
<b>II. vizsgálat</b>	<b>31</b>
II/a. A hem-oxigenáz-1 fehérje expressziója	31
II/b. A hem-oxigenáz fehérje aktivitása	32
II/c. Szuperoxid-dizmutáz koncentrációja	32
II/d. Teljes glutation tartalom	33
II/e. Mieloperoxidáz aktivitás	34
II/f. NF- $\kappa$ B fehérje expresszió	34
II/g. TNF- $\alpha$ fehérje expresszió	35
<b>6. Megbeszélés</b>	<b>36</b>
1. A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata	36
2. A paclitaxel és hatásai a szívizomban	41
<b>7. Következtetések</b>	<b>45</b>
1. A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata	45
2. A paclitaxel és hatásai a szívizomban	45
<b>8. Összefoglalás</b>	<b>46</b>
<b>9. Summary</b>	<b>48</b>
<b>10. Tárgyszavak</b>	<b>50</b>
<b>11. A vizsgálatok finanszírozása</b>	<b>51</b>
<b>12. Köszönetnyilvánítás</b>	<b>52</b>
<b>13. Táblázatjegyzék</b>	<b>52</b>

<b>14. Ábrajegyzék</b>	<b>53</b>
<b>15. Irodalomjegyzék</b>	<b>54</b>
<b>a. Hivatkozott közlemények</b>	<b>54</b>
<b>b. Saját közlemények</b>	<b>61</b>
<b>16. Hivatalos publikációs lista</b>	<b>62</b>

## 1. Rövidítések jegyzéke

ANOVA	analysis of variance, egyirányú varianciaanalízis
BMI	Body Mass Index, testtömeg index
CAD	coronary artery disease, koszorúér-betegség
CO	szén-monoxid
COPD	chronic obstructive pulmonary disease, krónikus obstruktív tüdőbetegség
CTRL	kontroll csoport
DCB	drug-coated balloons, gyógyszerrel bevont ballonok
DES	drug-eluting stents, gyógyszert felszabaduló sztentek
DNS	dezoxiribo-nuklein-sav
DTNB	5,5'-ditio-bisz-2-nitrobenzoesav
DTT	ditiotritol
EDTA	ethylenediamine tetraacetic acid, etilén-diamin-tetraecetsav
ELISA	enzyme linked immunoassay, enzimhez kötött immunoszorbens assay
GPx	glutathione peroxidase, glutation peroxidáz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	hidrogén peroxid
HBA	Hyaluronan Binding Assay, hialuronsav kötődési teszt
HB-MaSC	Hyaluronan Bound Matured Sperm Count, hialuronsavhoz kötődő érett spermiumszám
HO-1	haem oxygenase-1, hem oxigenáz-1
IGF-1	Insulin-like growth factor, inzulinszerű növekedési faktor-1
IL-1,-6,-35	interleukin-1,-6,-35
IP	intraperitoneális
ISO	izoproterenol
GSH	redukált glutation

GSR	glutation-reduktáz
GSSG	glutation diszulfid, oxidált glutation
h	óra
HCL	hidroklorid
HEPES	4-(2-hidroxietyl)-1-piperazin-etánszulfon sav
HRP	Horseradish peroxidase, torma peroxidáz
LDH-1	laktát dehidrogenáz-1
LOH	late onset hypogonadism, késői megjelenésű hipogonadizmus
mg	milligramm
MI	miokardiális infarktus
mL	milliliter
MPO	mieloperoxidáz
mPTP	mitochondrial permeability transition pore, mitokondriális permeabilitási átmeneti pórus
mRNS	messenger-RiboNucleic-Acid, hírvivő RNS
NADPH	$\beta$ -nikotinamid-adenin- dinukleotid-foszfát
NF- $\kappa$ B	Nukleáris Faktor-kappa-B
NO	nitrogén monoxid
Nrf2	Nukleáris faktor erythroid 2-related factor2
$\cdot\text{O}_2^-$	szuperoxid anion
ODD	O-dianizidin-dihidroklorid
$\cdot\text{OH}$	hidroxil-gyök
ONOO $^-$	peroxinitrit anion
P450scc	P450 (Cholesterol) side-chain cleavage enzyme, P450 Koleszterin oldallánc hasító enzim

PAC	paclitaxel
PBS	foszfát-pufferelt sóoldat
pg	pikogramm
pH	potentia hydrogenii, hidrogénionok koncentrációja
POST	kezelés utáni
PRE	kezelés előtti
•ROO•	peroxil-gyök
ROS	reactive oxygen species, reaktív oxigén gyökök
SD	standard deviáció
SOD	superoxide dismutase, szuperoxid dizmutáz
TNF- $\alpha$	tumor nekrosis faktor-alfa
Tris	tris (hidroximetil) aminometán
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling
USA	Amerikai Egyesült Államok

## 2. Bevezetés

A sejtek homeosztázisának egyik fontos eleme, hogy a normál működés fenntartásához a redukzív és oxidatív tulajdonságokkal bíró ágensek egyensúlyban legyenek. Ha a redox egyensúly felborul, és az oxidatív tulajdonságú molekulák kerülnek túlsúlyba, ami oxidatív stressz kialakulásához vezethet. Az oxidatív stressz szövetekre gyakorolt káros hatása jól dokumentált és számos korábbi tanulmány központi témája [1;2].

Az oxidatív stressz ellen a sejtek különböző védekező mechanizmusokat használnak a homeosztázisuk fenntartásához. A leggyakoribb védekező mechanizmusok enzimatikus alapúak; számos enzim közül a legfontosabbak a szuperoxid-dizmutáz (SOD), a glutation peroxidáz (GPx), a kataláz, valamint a hem-oxigenáz-1 (HO-1), mely enzimek és szubsztrátjaik endogén puffer rendszerekként viselkednek [3]. Az oxidatív stressz számos ismert betegség patogenezisében szerepet játszik, ilyenek a neurodegeneratív betegségek [4] (pl. Alzheimer betegség, Parkinson kór stb.), malignus tumorok, cukorbetegség, krónikus vesebetegség, pszichiátriai betegségek (depresszió, szkizofrénia, bipoláris zavar), tüdőbetegségek (COPD, tüdőtumor) és az öregedés [5].

Értekezésemben két igen fontos szerv oxidatív stresszre adott válaszát, illetve az azok elleni védekezés lehetőségeit vizsgálom állatkísérletes modellekben.

Első kísérletsorozatunkban (I.) a herék oxidatív stresszét idéztük elő izoproterenol (ISO) injekcióval, majd a rendszeres, mérsékelt úszóedzés hatásait vizsgáltuk, mind az ejakulátumban, mind a hereszövetben [6].

A második kísérlet sorozatban a paclitaxel védő hatását vizsgáltuk szívizomszövetben, a károsító ágensként használt izoproterenol injekciót követően [7].

## Irodalmi áttekintés

### I. A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata

Bár a megtermékenyítés minden faj túléléséhez elengedhetetlen, a mögöttes jelátviteli útvonalak és biokémiai mechanizmusok továbbra is csak részben tisztázottak.

Az oxidatív stressz hímivarsejtekre gyakorolt káros hatásait először 1943-ban írták le [8], majd a következő évtizedben az oxigén és redukált formáinak toxicitását, illetve a többi emberi szövetre gyakorolt hatását vizsgálták, majd az '50-es évek közepén felállították a megnövekedett szabadgyök képződésen alapuló öregedés elméletet [9;10;11]. Az emberi szervezetben a spermiumok különösen érzékenyek a környezetük változásaira. Jól dokumentált, hogy megnövekedett reaktív oxigén szabadgyök (ROS) termelődés következményeként az oxidatív stressz állapota áll be, mely a lipidek, fehérjék és a dezoxiribonukleinsav (DNS) károsodásával jár. Mindezek szubfertilitáshoz, infertilitáshoz és/vagy a terhesség korai megszakadásához vezethetnek [1].

A klinikai gyakorlatban számos olyan környezeti tényező van, melyek a herékre káros hatással vannak, ezen káros hatások sejt szinten oxidatív stressz formájában fejeződnek ki. A leggyakoribb oxidatív stresszt okozó hatások, a dohányzás, a herevisszér tágulat (varicocele), a járművek kipufogó gázai, illetve a mozgásszegény életmód.

A testmozgás komplex egészségügyi előnyei jól ismertek. A rendszeres, mérsékelt testmozgás csökkenti a szív- és érrendszeri betegségek kockázatát és hozzájárul a nem fertőző krónikus betegségek megelőzéséhez [12]. Az utóbbi évtizedekben egyre nagyobb figyelem fordul a mozgásszegény életmód által okozott krónikus betegségek felé, mint arra az Egészségügyi Világszervezet (WHO) is felhívta a figyelmet 2022-ben. A következményes krónikus betegségek a fejlett világ szinte minden országában az egészségügyi ráfordítások jelentős részét teszik ki [13]. Klinikai és kísérletes vizsgálatok alátámasztják, hogy a mozgásszegény, jórészt ülő életmód jelentős szerepet játszik a férfi megtermékenyítő képesség csökkenésében és a meddőség előfordulásának növekedésében [14]. Epidemiológiai vizsgálatok alátámasztják, hogy a férfiak a meddőségi esetek 20-30% -áért felelősek, és összességében az esetek akár 50%-ához is hozzájárulnak [15]. Egyre több bizonyíték utal arra, hogy a mozgásszegény életmód károsan hat a férfiak reprodukzív állapotára, hozzájárulva az időskori férfi hipogonadizmushoz (LOH), amelyet a csökkenő tesztoszteronszint, gyenge libidó, merevedési zavarok, kognitív képességek romlása, androgén típusú hízás, izomtömeg csökkenése és csökkent spermium megtermékenyítő képesség jellemez [16]. Ismert, hogy a fizikailag aktív egyéneknél magasabb a megfelelő motilitású spermiumok aránya a mozgásszegény kontrollokhoz képest [17], továbbá a rendszeres, mérsékelt intenzitású testmozgás bizonyítottan csökkenti a spermiumok DNS-

károsodását, a DNS fragmentáció arányát [18] és a gyulladással összefüggő öregedési folyamatokat [19], javítva ezzel a megtermékenyítés valószínűségét.

A mozgásszegény életmóddal összefüggő kedvezőtlen mechanizmusokkal kapcsolatban széleskörű konszenzus van abban, hogy az antioxidáns/oxidáns homeosztázis, valamint a gyulladási folyamatok a fő sebezhető célpontok és útvonalak. Előzetes eredményeink azt bizonyítják, hogy az ülő, mozgásszegény életmód az oxidáns/antioxidáns homeosztázis zavarát eredményezi, ami következésképpen oxidatív károsodást okoz [20;21].

Ami a reprodukciós változásokat illeti, az oxidatív stressz a sejtmembránokat károsíthatja az azokat felépítő többszörösen telítetlen zsírsavakon keresztül, a herecsatornák membránjai többszörösen telítetlen zsírsavakban gazdagok, ezért a here rendkívül érzékeny a ROS által kiváltott károsodásra [22]. A gyulladási paraméterek, a tumor nekrozis faktor alfa (TNF- $\alpha$ ) és az interleukin-6 (IL-6) kulcsfontosságú pro-inflammatorikus citokinek, amelyek összefüggésbe hozhatók a férfi termékenységgel. Azenabor és munkatársai kimutatták, hogy a hímivarsejtekben a citokinek fiziológiásan is termelődnek, azonban a káros hatások a koncentrációjukat kóros szintre tolhatják. A herékben történő citokin kifejeződés mellett ezek a változások az ejakulátumban is megfigyelhetők [23].

Kutatócsoportunk korábban alátámasztotta, hogy a szövetkárosodás mögöttes mechanizmusai az oxidáns/antioxidáns homeosztázis egyensúlyhiányának és a felgyorsult gyulladási folyamatoknak köszönhetőek [20;24;25;26]. Bizonyítottuk továbbá azt is, hogy az ISO által kiváltott károsodásokat sikeresen helyreállította a rendszeres, kontrollált testmozgás ösztrogénhormon-hiányos nőstény patkányokban [20]. Az ösztrogén által közvetített folyamatok modulációja mellett az endogén tesztoszteronszint csökkenése, csökkent antioxidáns kapacitással és a gyulladási paraméterek emelkedett szintjével járhat együtt [27].

Emellett Cheng és munkatársai megállapították, hogy az ISO adagolása hozzájárul a tesztoszteronszint csökkenéséhez és a herék káros szöveti változásaihoz [28]. Bár a szexuáliszteroid hormonok (azaz az ösztrogén és a tesztoszteron) hiánya szoros összefüggésbe hozható az antioxidáns védekezőképesség csökkenésével, a ROS termelésére történő eltolódással; nem világos, hogy a rendszeres testmozgás hozzájárulhat-e a hereszövetben és az ejakulátumban bekövetkező kedvező gyulladási és antioxidáns változásokhoz.

## **II. A paclitaxel és hatásai a szívizomban**

A paclitaxel egy erősen citotoxikus vegyület, melyet először a csendes-óceáni tiszafa kérgéből izoláltak. Antiproliferatív tulajdonságai miatt évtizedek óta alkalmazzák az onkológiában, többek között a prosztatatarák, az emlőrák, a tüdőrák és a petefészekrák standard terápiájaként. A szív- és érrendszeri alkalmazásokban a paclitaxelt először a koszorúereknél alkalmazták, és ez a gyógyszert felszabaduló sztentek (DES) és a gyógyszerrel bevont ballonok (DCB) gyakori bevonó anyaga, mivel ez a hatóanyag gátolja a simaizomsejtek proliferációját és migrációját, és kevés mellékhatás mellett jelentősen csökkenti a resztenózis és a céllézió revaszkularizáció előfordulását [29-34]. A paclitaxel a gyulladás szabályozásában is szerepet játszik. Ezek a funkciók a mikrotubulusok irreverzibilis stabilizálásával valósulnak meg, ami diszfunkcionális struktúrákat eredményez, amelyek megzavarják a létfontosságú sejtfolyamatokat, például a sejtek jelátvitelét és a szerkezeti szerveződés fenntartását [35;36].

Napjainkban a paclitaxellel bevont sztenteket és ballonokat gyakran alkalmazzák a klinikai gyakorlatban, hogy csökkentsék a standard, bevonat nélküli intrakorporális eszközöket felhasználó eljárásoknál megfigyelhető magas posztintervenciós resztenózis arányát [33;37]. Egy nemrégiben készült metaanalízis azonban kérdéseket vetett fel ezen hatóanyag hosszú távú biztonságosságával kapcsolatban, amikor arról számolt be, hogy az alternatív terápiákkal összehasonlítva a gyógyszerrel bevont eszközök 2-5 év múlva megnövelték a halálozás kockázatát a perifériás artériás beavatkozásokon átesett betegeknél [38]. A szerzők azonban nem tudták megmagyarázni a késői halálozás lehetséges mechanizmusait. Ez meglepő eredmény volt, mivel a paclitaxelt hosszú időn keresztül antiproliferatív szerként alkalmazták a rákterápiában anélkül, hogy bármi jel utalt volna az ezzel kapcsolatos halálozásra. Ráadásul az endovaszkuláris eljárásokban a paclitaxel bevonó dózisa jellemzően kevesebb mint 10%-a annak, amit a rákkezelésben egyszeri adagban adnak be [29]. A munka sok kritikát is kiváltott, mivel nem vette figyelembe a betegek lemorzsolódását, valamint hiányoztak a betegsúlyú elemzések.

A későbbi klinikai vizsgálatok sem értettek egyet e metaanalízis következtetésével. Zeller és munkatársai jelezték, hogy a paclitaxel alkalmazása nem járt együtt az amputáció vagy az összhálaózás fokozott kockázatával az infrapopliteális artériás betegség kezelését követő 5 éves követés során [39]. Ezenkívül egy német

tanulmány egészségbiztosítási adatokat elemzett, és 11 éven keresztül nem talált különbséget a halálozási arányban a paclitaxellel bevont ballonok/paclitaxel bevonatú sztentek és más, gyógyszer nélküli eszközök között [40]. A paclitaxel ér- és szívsejtekben kifejtett molekuláris hatásmechanizmusainak feltárása alapot szolgáltat a biztonságosság, a hatékonyság és a szív- és érrendszeri gyógyászatban való konkrét alkalmazás tekintetében.

Korábbi kutatások kimutatták ezen gyógyszer jótékony antioxidáns funkcióit, valamint károsító hatásait is. Csökkentette az iszkémiás kamrai aritmiák súlyosságát és az iszkémiás-reperfúziós károsodás mértékét, amikor 0,1  $\mu\text{M}$  és 1  $\mu\text{M}$  paclitaxelt adtak izolált patkányszívbe, a nagyobb dózis mindkét esetben nagyobb hatást fejtett ki [41]. Ezt követően ugyanaz a kutatócsoport kimutatta, hogy a paclitaxel 0,1  $\mu\text{M}$ , 0,3  $\mu\text{M}$  és 1  $\mu\text{M}$  dózisban csökkentette a ROS termelődését és indukálta a HO-1 expresszióját, ami potenciálisan magyarázhatja a korábban ismertett védőhatásokat [42]. Ezen kutatások alapján a szerzők azt feltételezték, hogy a mikrotubuláris stabilizáció hozzájárulhatott a megfigyelt hatásokhoz a csökkent intracelluláris kalciumion ( $\text{Ca}^{2+}$ ) túlterhelésen keresztül.

Ezekkel az eredményekkel ellentétben más kutatók nem észlelték a paclitaxel kardioprotektív hatását a látszólagos mikrotubuláris stabilizáció ellenére. Egy vizsgálatban szintén megnövekedett citoszolikus  $\text{Ca}^{2+}$ -szintekről számoltak be, ami magyarázatot adhat a kardioprotekció hiányára ebben a modellben [36].

Egy másik vizsgálatban a paclitaxel mitokondriális permeabilitási átmeneti pórus (mPTP) megnyílását idézte elő szívizomsejtekben, amit a sejtek megemelkedett ROS-szintjével magyaráztak [43]. Továbbá, a hosszú távú paclitaxel-adagolás megnövekedett TNF- $\alpha$  fehérjeszinthez és apoptózishoz vezetett egér szívekben [44]. A különböző (1-10  $\mu\text{M}$ ) dózisok és az ezekben a vizsgálatokban alkalmazott protokollok magyarázhatják talán az eltérésekért, mivel a magasabb gyógyszeradagok túlzottnak tűnnek, és akár toxikus hatásokat is kiválthatnak. A dózisfüggőséget Kang és munkatársai is kimutatták, mivel az alacsony és a magas paclitaxel-koncentrációk kevésbé voltak hatékonyak a simaizomsejtekből származó habossejtek proliferációjának csökkentésében. Érdekes módon a nagy dózisok ( $\geq 1$   $\mu\text{M}$ ) növelték a gyulladáscsökkentő IL-6 és csökkentették a gyulladáscsökkentő interleukin-35 (IL-35) citokin szintjét [45].

Bár a paclitaxel onkológiai és érrendszeri alkalmazásával kapcsolatban rengeteg

kutatás létezik, a megfelelő adatok hiánya miatt nehéz következtetéseket levonni a szívizomban kifejtett sejtszintű hatásairól. Ezért vizsgálatunkban a paclitaxel potenciális kardioprotektív tulajdonságainak elemzésére törekedtünk az ISO által kiváltott szívkárosodásnak kitett patkányokban.

### **3. Célkitűzések**

#### **I. vizsgálat**

**Első** kísérletsorozatunk célja az volt, hogy megvizsgáljuk a mérsékelt intenzitású fizikai testmozgás (úszás) feltételezett kedvező hatásait a herék antioxidáns státuszára és gyulladásos paramétereire, a tesztoszteron koncentrációjára, valamint a hialuronsav kötő képességére, így az egyed megtermékenyítő képességére.

#### **II. vizsgálat**

**Második** vizsgálatunkban a korábbihoz hasonlóan szintén az izoproterenollal kiváltott oxidatív károsodás és az azt kivédő mechanizmusok feltérképezése volt a cél paclitaxel használata mellett.

A vizsgálat során a hipotézisünk az volt, hogy a paclitaxel adása megvédi a szívet az oxidatív és gyulladásos folyamatok, mint például a TNF- $\alpha$  és az NF- $\kappa$ B proinflammatorikus jelátviteli útvonal elnyomásával, illetve a védő molekulák, például a HO-1 és a szuperoxid-dizmutáz (SOD) expressziójának serkentése révén.

#### 4. Anyagok és módszerek

Mindkét vizsgálatunkban hím (Harlan-)Wistar patkányokat (150-200 g) használtunk. Ketreceben, állandó hőmérsékleten (20-22 °C) és páratartalomban (40-50%) 10 napig, 12/12 órás fény/sötét ciklusban tartottuk őket. *Ad libitum* élelmet és vizet kaptak. A testtömeget a kiinduláskor és a kísérlet végén is megmértük. Vizsgálataink során a patkányok számát a kísérletek elvégzéséhez szükséges minimumon tartottuk. A mintanagyságot a laboratóriumunkban végzett hasonló korábbi kísérletek és kísérleti munkák alapján, valamint erőforrás-egyenlet számítással határoztuk meg.

##### I. vizsgálat:

###### *I/a. Vizsgálati csoportok felállítása*

A vizsgálat kezdetén a patkányokat öt csoportra osztottuk az alábbiak szerint:

- (1) Abszolút kontrollok (CTRL)
- (2) Izoproterenol-kezelt (ISO)
- (3) K kezelés előtti úszótréning + izoproterenol (PRE+ISO)
- (4) ISO + kezelés utáni úszótréning (ISO+POST)
- (5) Kezelés előtti úzás + izoproterenol kezelés + kezelés utáni úzás (PRE+ISO+POST)

Vizsgálatunkban csoportonként legfeljebb 9 patkányt használtunk (az állatok teljes száma  $n = 45$ ). A heremorfológiai változásokat 1,0mg/kg injekcióval idéztük elő (Sigma Chemicals Co., Poole, UK), melyet 1ml fiziológiás sóoldatban hígítva bőr alá injektáltunk. A megfelelő izoproterenol dózist korábbi vizsgálatainkban állítottuk be, és előzetes kísérletekben megbizonyosodtunk arról is, hogy az alkalmazott dózis nem toxikus, de elegendő a szívizomkárosodás kiváltásához [19]. A vizsgálat során minden erőfeszítést megtettünk annak érdekében, hogy az állatok számára a lehető legkisebbre csökkentsük a stresszfaktorokat.

###### *I/b. A testezés protokollja*

Az állatok egy héttel az úzás megkezdése előtt alkalmazkodtak a vízhez. Ezt követően a patkányokat heti 5 napon át, 3 héten keresztül egyénileg edzettük egy 60 cm mély, 20cm x 20cm-es, 32-33°C-os vízzel töltött medencében [28]. Minden egyes úzás 25 percig tartott, és minden edzést reggelente végeztünk, kiküszöbölve a

cirkadián ritmus változásából adódó tesztoszteron szint változásokat. A fizikai aktivitás után a patkányokat törölközővel megszáritottuk, majd visszatettük őket a ketrecükbe. A PRE+ISO csoportba tartozó állatok az izoproterenol beadása előtt 3 hétig edzettek, míg az ISO+ POST csoportba tartozó állatok az izoproterenol injekció beadása után 3 hétig edzettek. A PRE+ISO+POST csoportban lévő patkányokat 3 hétig edzettük az izoproterenol kezelés előtt, illetve után. A teljes kísérleti időszak végén vér-, ejakulátum- és hereszövetmintákat gyűjtöttünk, melyeken az alábbi vizsgálatokat végeztük el:

*I/c. A tesztoszteron szint meghatározása*

A kísérleti időszakok végén a vérmintákat műanyag szérumszeparátoros géllal készült vérvételi csövekbe gyűjtöttük, majd 1000×g-nél, 4°C-on 10 percig centrifugáltuk. Ezután a teljes tesztoszteronszintet az Immulite 2000XPi (Siemens, München, Németország) kemilumineszcens immunoassay-el mértük, és ng/dl-ben fejeztük ki.

*I/d. Ejakulátumgyűjtés*

A mesterséges ejakulációt elektroejakulációval, standardizált módszerrel értük el. A patkányokat egy elektroejakulációs platformra helyeztük háton fekvő helyzetben. Az elektroejakulátor 0,2 mm átmérőjű és 40 mm hosszúságú szondával volt felszerelve. A szondát vazelinnel kentük be, és megfelelően behelyeztük a végbélbe. Az elektroejakulátor kimenetét 2-3V-ra állítottuk. Az ejakulátumot steril pipettával gyűjtöttük, és egy 500µl-es mikrofúziós csőbe töltöttük. Az ejakulátumból 7-10µl-t azonnal felhasználtunk a hialuronsav-kötési (HBA<sup>®</sup>) vizsgálatához, a fennmaradó mennyiséget pedig -20°C-on tároltuk a további biokémiai elemzésekhez. Az ejakulátum gyűjtés után a patkányokat visszakerültek a ketrecükbe, és naponta megfigyeltük őket. A biokémiai mérésekhez és a hialuronsav-kötési vizsgálatához teljes ondómintákat használtunk.

*I/e. Hialuronsav kötődési vizsgálat (HBA<sup>®</sup>)*

A hímivarsejtek funkcionális értékelését a kereskedelmi forgalomban kapható HBA<sup>®</sup> tesztekkel (Biocoat Inc., Horsham, PA, USA) végeztük el. A HBA-teszt alkalmas módszer lehet a szubfertilitás, illetve meddőség előrejelzésére. Az alacsony HBA-pontszám az érett, megtermékenyítő képes spermiumok alacsony arányára

utal, míg a magasabb HBA-pontszám az egészséges, érett spermiumok normális jelenlétét mutatja. A módszer alapelve az, hogy egészséges termékeny egyedekben az érett spermiumok kötődnek a hialuronsavhoz, míg az éretlen spermiumok nem kötődnek. A hialuronsav a petesejt cumulus oophorusának egyik fő összetevője, így a hialuronsavhoz való kötődés a spermium-petesejt kapcsolódás egyik kulcs mozzanata, mely alapvető feltétele a megtermékenyítésnek. A hialuronsavkötő képesség, a spermiumok fején a hialuronsav kötő receptor felszíni kifejeződése a hímivarsejtek érési folyamatának egyik utolsó lépése, ezáltal a hímivarsejtek érettségének jó és klinikai gyakorlatban is jól használható markere [47;48]. A hialuronsavval bevont tárgylemezt úgy tervezték, hogy utánozza a petesejt körülvevő környezetet; így mikroszkóp alatt a kötött spermiumok könnyen megkülönböztethetők a nem kötött spermiumoktól. A vizsgálatot a gyártó utasításai szerint végeztük el. Röviden, 7-10 $\mu$ l ejakulátumot pipettáztunk a lemezek hialuronsavval bevont felületére. Mikroszkóp alatt, 10-15 perces inkubáció után (Axiocam 506 mono kamerával felszerelt Zeiss Imager Z.2 fluoreszcens mikroszkóp) meghatároztuk a mozgó spermiumok kötődési arányát.

A hialuronsavhoz kötődő spermiumok százalékos arányát a következőképpen számolhatjuk ki:

$$\text{kötődési \%} = 100 \times \frac{\text{kötött motilis spermiumok}}{\text{kötött motilis spermiumok} + \text{nem kötött motilis spermiumok}}$$

#### *I/f. Proinflammatorikus citokinek: TNF- $\alpha$ és IL-6 koncentráció meghatározás*

A TNF- $\alpha$ , IL-6 proinflammatorikus citokinek koncentrációjának meghatározása ELISA módszerrel történt hereszövetmintából. Az egyes vizsgálati ciklusok végén a patkányok hereszövetét kimetszettük, a szövetet foszfáttal pufferben (PBS, pH 7,4) homogenizáltuk, majd a mintákat 2500 fordulat/perc fordulatszámon 20 percig 4°C-on centrifugáltuk.

A hereszövet preparátum felülúszóját és az ejakulátumot ELISA vizsgálatnak (GenAsia Biotech, Sanghaj, Kína) és fehérjeméréseknek vetettük alá. A gyártó utasításai szerint a TNF- $\alpha$  és az IL-6 koncentrációját 450 nm-en határoztuk meg ELISA módszerrel. A TNF- $\alpha$  és IL-6 szinteket ng/mg fehérjetartalomban fejeztük

ki.

*I/g. Redukált, az oxidált és teljes glutation szint (GSH, GSSG; GSH+GSSG) meghatározás*

A teljes glutation szint (GSH+GSSG) tartalom mérése a GSH (glutation) vagy GSSG (Glutation-diszulfid) biokémiai reakcióján (katalitikus hatásán) alapul a DTNB (5,5'-ditio-bisz-2-nitrobenzoészav) redukciójában a glutation-reduktáz és a NADPH ( $\beta$ -nikotinamid-adenin- dinukleotid-foszfát) keverékével. A herék antioxidáns státuszát jelző teljes glutation-tartalmat (GSH+GSSG) az ejakulátum- és hereszövetmintákból mértük. A here szövetet 0,25M szacharóz, 20mM Tris (tris-hidroximetil-aminometán) és 1mM ditiotreitól (DTT) oldatban homogenizáltuk, majd 30 percig 4°C-on 15000× g-nél centrifugáltuk.

A felülúszó frakciókat összegyűjtöttük, és 0,1M CaCl<sub>2</sub>, 0,25M szacharózzal, 20mM Tris-el és 1mM DTT-vel kezeltük. A 30 perces, 0°C-on történő inkubációt és további 21450× g-nél 4°C-on 60 percig végzett centrifugálást követően, a tiszta frakciót használtuk az enzimtartalom mérésére. A glutation, a glutation-reduktáz, az 5,5'-ditio-bisz-2-nitrobenzoészav (DTNB) és a  $\beta$ -nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát ( $\beta$ -NADPH) törzsoldathoz, hígító puffereként 125mM Na-foszfátot és 6,0mM EDTA-t (etilén-diamin-tetraecetsav) tartalmazó oldatot alkalmaztunk. 40  $\mu$ L ejakulátum és hereszövet mintához 20  $\mu$ L DTNB törzsoldatot és 140  $\mu$ L  $\beta$ -NADPH-t adtunk, majd 25°C-on inkubáltuk 5 percig. Összesen 10 $\mu$ L glutation-reduktázt használtunk a reakció elindításához, és az abszorbanciát 405 nm-en mértük 10 perccel a reakció elindítása után mikrolemes olvasóval 10 perccel a reakció elindítása után. Az összes glutation-tartalmat nmol/mg fehérjetartalomhoz viszonyítva fejeztük ki. A GSH+GSSG tartalom mérése a GSH vagy GSSG biokémiai reakcióján (katalitikus hatásán) alapul a DTNB redukciójában a glutation-reduktáz és a NADPH keverékével [44].

*I/h. A mieloperoxidáz (MPO) enzim aktivitás mérése*

A patkányherék szövetmintáit jéghideg foszfát-pufferelt sóoldatban (PBS, pH 6,0) homogenizáltuk, háromszor fagyasztva-felolvasztva, majd kétszer 15 000×g-n 15 percig 4°C-on centrifugáltuk. A hereszövet felülúszóból vagy ejakulátumból 12 $\mu$ L aliquotot adtunk 280 $\mu$ L PBS és 0,167 mg/ml O-dianizidin-dihidroklorid keverékéhez. A reakciót 10 $\mu$ L 0,03%-os hidrogén-peroxiddal indítottuk el, és a mintát 90 másodperces rázás után 490 nm-en spektrofotometriásan vizsgáltuk. Az

ondó és a herék mieloperoxidáz aktivitását  $\mu\text{U}/\text{mg}$  fehérjetartalomban fejeztük ki.

#### *I/i. Fehérje analízis*

Kereskedelmi forgalomban kapható fehérje meghatározó kit (Bio-Rad Labs, Hercules, CA, USA) segítségével a hígított here- és ondóminták aliquotjait ( $20\mu\text{l}$ )  $980\mu\text{l}$  desztillált vízzel kevertük össze, majd minden egyes mintához  $200\mu\text{l}$  Bradford-reagens került. A keverés után és 10 perces inkubációs időt követően a mintákat spektrofotometriásan,  $595\text{nm}$ -en vizsgáltuk. A fehérjeszintet  $\text{mg}$  fehérje/ $\text{ml}$ -ben fejeztük ki.

#### *I/j. Statisztikai elemzés*

A statisztikai számításokat a GraphPad Prism for Windows szoftverrel végeztük (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). Minden adat a csoport átlagértékeként  $\pm$  standard eltérés (SD) szerepel. A Shapiro-Wilk-féle normalitási tesztet használtuk a Gauss-eloszlás becsléséhez. Az elemzést ezután egyirányú varianciaanalízis (ANOVA) teszt segítségével végeztük el, amelyet Tukey többszörös összehasonlítás utóteszt, *post hoc* analízis követett (ha az F elérte a  $p < 0,05$  értéket és a normalitás tesztje megfelelt). Statisztikai elemzéseket csak olyan kísérletek esetében végeztünk, ahol az egyes csoportok mérete (n) legalább 5 volt. A  $0,05$ -nél kisebb valószínűségi értékeket (p) szignifikánsan különbözőnek tekintettük, és a pontos p-értékeket minden csoportra vonatkozóan az Eredmények fejezetben, szóráspon-diagramokon mutatom be.

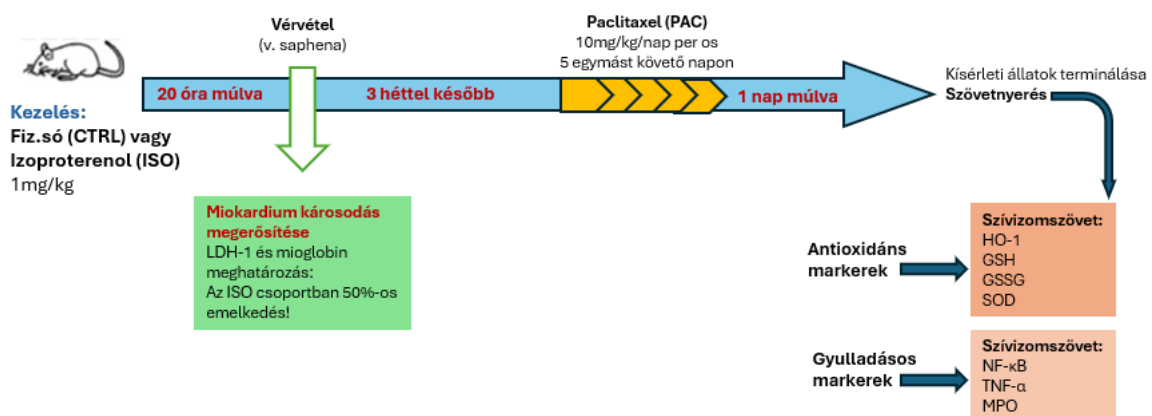
## II. Vizsgálat

Az ISO által kiváltott szívizom károsodást és annak csökkentésben résztvevő enzimek és jelátviteli útvonalak vizsgálatát célzó vizsgálatokban a következő anyagokat és módszereket használtuk fel:

### II/a. Vizsgálati csoportok felállítása

A Wistar patkányokat a kísérleti körülményekhez való hozzászoktatás után 4 csoportra osztottuk (CTRL-kontroll csoport, ISO-izoproterenollal kezelt csoport, PAC-csak paclitaxellel kezelt csoport, ISO+PAC-izoproterenollal és paclitaxellel kezelt csoport). Intraperitoneálisan (IP) sóoldatot (CTRL) vagy 1 mg/kg izoproterenolt (ISO) adtunk be. Vérmintákat vettünk 20 órával később a véna saphenából a laktát-dehidrogenáz (LDH) és a mioglobin szintjének meghatározására, hogy igazolni lehessen a szívizomkárosodást. Három héttel az izoproterenol kezelést követően paclitaxelt adtunk (10 mg/kg/nap) 5 napon át szájon keresztül [49], mind a csak paclitaxellel kezelt patkányoknak (PAC), mind a korábban izoproterenollal kezelt patkányoknak (ISO + PAC).

Minden patkányt 24 órával az utolsó adag paclitaxel szájon át történő beadása után termináltunk. A szív bal kamrákat biológiai mérésekhez gyűjtöttük be: HO-1, GSH, GSSG, SOD, NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  és MPO szintet mértünk a szövetben. A bal kamrai mintákat folyékony nitrogénben porítottuk, és az elemzésekig -80°C-on tároltuk (1. ábra).



1. ábra. A paclitaxellel végzett kísérlet (II.) idővonala és protokolljai

### *II/b. A szív HO-1, NF- $\kappa$ B és TNF- $\alpha$ koncentrációjának meghatározása*

A porított kamrai mintából 40mg-ot jéghideg foszfát pufferben (pH 7,4) 20 másodpercig homogenizáltunk, majd a felülúszót 4°C-on történő centrifugálás után (20 perc, 2500 rpm) nyertük a további ELISA és fehérjeelemzésekhez. Minden helyre 40 $\mu$ L szívsvöveti felülúszót vagy 50 $\mu$ L standard oldatot adtunk, beleértve a monoklonális antitestet is, a gyártó (GenAsia Biotech Co., Ltd., Sanghaj, Kína) utasításai alapján. Ezután 10 $\mu$ L biotinnal jelölt másodlagos ellenanyagot adtunk minden egyes mélyedésbe, majd 50 $\mu$ L Streptavidin-HRP-t adtunk a felülúszóhoz és a standardhoz; a következőkben a biotinnal jelölt ellenanyaggal immunkomplexet képeztünk. Ezt követően a lemezt 60 perces 37°C-on történő inkubálás után ötször mostuk, hogy a nem kötött enzimeket eltávolítsuk.

Az A és B szubsztrátot (50 $\mu$ l) a mélyedésekbe raktuk és 10 percig inkubáltuk 37°C-on a színfejlődés érdekében. Az utolsó lépésben 50 $\mu$ L stop-oldatot pipettáztunk a mélyedésekbe, ami a kékről sárgára történő színváltozást eredményezte. Az adatokat 450nm-es optikai denzitáson határoztuk meg egy mikrolemez olvasóval (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) (1. táblázat).

Átlag $\pm$ SD	Kontrol	ISO	PAC	ISO+PAC
MPO ( $\mu$ U/ fehérje mg)	16511 $\pm$ 5944	27697 $\pm$ 4979	16967 $\pm$ 3453	17260 $\pm$ 2979
HO-1 aktivitás (nmol bilirubin/h/ fehérje mg)	0,431 $\pm$ 0,0629	0,035 $\pm$ 0,0259	0,36 $\pm$ 0,1346	0,242 $\pm$ 0,05391
HO-1 koncentráció (pg/ fehérje mg)	491,1 $\pm$ 58,87	237,8 $\pm$ 42,52	467 $\pm$ 50,29	381,4 $\pm$ 79,82
Teljes glutation (nmol/ fehérje mg)	3,894 $\pm$ 0,5405	1,758 $\pm$ 0,5383	3,718 $\pm$ 0,7018	2,762 $\pm$ 0,7259
SOD (ng/ mL)	141,9 $\pm$ 3,1	64,6 $\pm$ 4,624	132 $\pm$ 9,95	109,1 $\pm$ 14,96
TNF- $\alpha$ (pg/ fehérje mg)	9,33 $\pm$ 1,395	15,63 $\pm$ 2,089	10,13 $\pm$ 1,103	12,16 $\pm$ 1,542
NF- $\kappa$ B (pg/ fehérje mg)	189,4 $\pm$ 83,26	411,8 $\pm$ 42,69	119,6 $\pm$ 29,52	185,7 $\pm$ 47,8

**1.táblázat: A paclitaxellel végzett vizsgálatok eredményei.** MPO: mieloperoxidáz, HO-1: hem oxygenáz-1, SOD: szuperoxid dizmutáz, TNF- $\alpha$ : tumor nekrozis faktor-alfa, NF- $\kappa$ B: Nukleáris faktor kappa-B

### *II/c. A szív teljes glutation (GSH+GSSG) szintjének mérése*

Első lépésben elkészítettük az **A** puffert (0,25M szacharóz, 20mM Tris és 1mM DTT- ditiotreitolt) és a **B** puffert (0,1M CaCl<sub>2</sub>, 0,25M szacharóz, 20mM Tris és 1mM DTT). A porított kamrákból kezdetben körülbelül 40 mg-ot homogenizáltunk az **A** pufferben, majd ezt követően a **B** pufferben. A felülúszót 30 percig centrifugáltuk 4°C-on, majd a visszamaradt tiszta citoszolos frakciót enzimvizsgálatra használtuk. A reagenseket (20 $\mu$ L DTNB, 140 $\mu$ L NADPH, 10  $\mu$ L glutation-reduktáz és 40 $\mu$ L minta) egy 96 mélyedéses lemezen összekevertük. Az eredményeket 10 perccel a reakció kezdete után 405 nm-en detektáltuk az DTNB képződéssel. A GSH-szinteket nM/fehérje milligramm mennyiségben fejeztük ki (1.táblázat).

*II/d. A szuperoxid-dizmutáz vizsgálata a szívizomszövetben*

A szívizom SOD aktivitását egy specifikus kit (Abcam, ab65354, Abcam, Cambridge, UK) segítségével mértünk; a gyártó útmutatásai szerint homogenizáltuk a porított szívkamrai szövetmintákat, és az enzimaktivitás meghatározásához a vízben oldódó formazán festék abszorbanciájának növekedését 450nm-en detektáltuk mikrolemez olvasóval. Az eredményeket ng/mL-ben fejeztük ki. (1.táblázat)

*II/e. A szívizom mieloperoxidáz aktivitásának meghatározása*

A porított kamrákból körülbelül 40 mg-ot homogenizáltunk 0,5% hexadecil-trimetil-ammónium-bromidot tartalmazó foszfátpufferben (pH 6,0). A mintákat először folyékony nitrogénbe, majd 37°C-os vízfürdőbe helyeztük, majd ezt a lépést háromszor megismételtük. Ezután a mintákat centrifugáltuk (15 000×g-vel 15 percig 4°C-on), és a felülúszókat összegyűjtöttük. Egy 96 üregű lemezen 280µL-t (o-dianisidin-diHCL-t 12µL mintával vagy standarddal (peroxidáz oldatból hígítva) együtt) adtunk az üregekbe. 59 másodperces rázást követően az mieloperoxidáz aktivitást 490nm-en detektáltuk, és µU/fehérje mg-ban fejeztük ki. (1.táblázat)

*II/f. A szív hem-oxigenáz aktivitásának meghatározása*

Jéghideg puffert készítettünk, amely 10,0mM HEPES-t (4-(2-hidroxietyl)-1-piperazin-etánszulfon sav)), 32,0mM szacharózt, 1,0mM DTT-t, 0,10mM EDTA-t, 10,0g/mL tripszin inhibitort, 10,0µg/mL leupeptint és 2,0µg/mL aprotinint tartalmazott (pH 7,4), majd a szívsvetmintákat ebben a pufferben homogenizáltuk. A felülúszót 20 percig 4°C-on 15 000×g-nél 20 percig tartó centrifugálást végeztünk. A reakcióelegy 150,0µL felülúszót, 2,0mM glükóz-6- foszfátot, 0,14U/mL glükóz-6-foszfát-dehidrogenázt, 15,0µM hemint, 120,0µg/mL patkánymáj citoszolt a biliverdin-reduktáz forrásaként, 2,0mM MgCl<sub>2</sub>-6H<sub>2</sub>O-t és 100,0mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-t tartalmazott.

A reakciót 100,0µL redukált β-NADPH-val indítottuk el, majd a reakcióelegyet sötétben inkubáltuk 60 percig 37°C-on. A bilirubin-tartalmat a 465 és 530nm-en mért optikai sűrűséggel határoztuk meg, és a két sűrűség közötti különbséget kiszámítottuk. A hem oxigenáz-1 aktivitást az óránként termelődő bilirubin mennyiségeként (nmol-ban) határoztuk meg és milligramm fehérjére adtuk meg. (1.táblázat)

## *II/g. Statisztikai analízis*

Minden kísérletet úgy terveztünk, hogy azonos méretű csoportokat hozzunk létre randomizálással. A csoportméretek a független minták/állatok számát jelentik, nem pedig a technikai ismétléseket. Az adatokat a csoport átlagértékeként  $\pm$  standard eltérés (SD) szerepel, hacsak másképp nem jeleztük. Először a kezelési csoportok végpontparamétereinek összehasonlításához a normális eloszlást a D'Agostino és Pearson-féle normalitásvizsgálattal becsültük meg. A statisztikai elemzést ezután egyirányú varianciaanalízissel (ANOVA) végeztük, amelyet Tukey eljárás követett (ha a normalitásvizsgálat megfelelt, és nem volt jelentős variancia-inhomogenitás), vagy a Kruskal-Wallis-teszt, amelyet Dunn posztteszt követett (ha az előző normalitásvizsgálat nem felelt meg). A statisztikai elemzéseket ugyancsak a GraphPad Prism szoftverrel (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) végeztük. A 0,05-nél kisebb valószínűségi értékeket (p) szignifikánsnak tekintettük, és csillaggal jelöltük a grafikonokon (\*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ ).

Minden kísérletet a Szegedi Tudományegyetem Állatjóléti Bizottsága vizsgált felül és hagyott jóvá.

Használt etikai engedélyek:

I. vizsgálat: XX./1405/2021

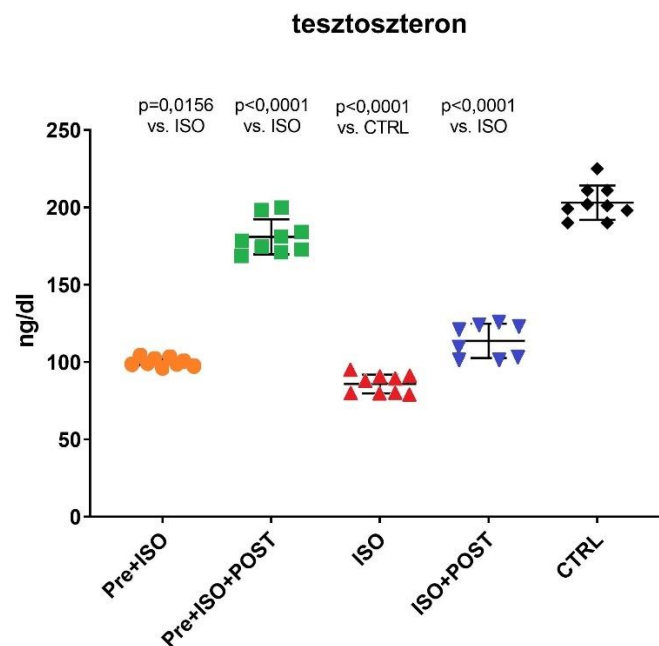
II. vizsgálat: XXXIX./3546/2022, 01/2023

## 5. Eredmények

### I. vizsgálat: A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata

#### I/a. Változások a szérumban a tesztoszteron szintjében

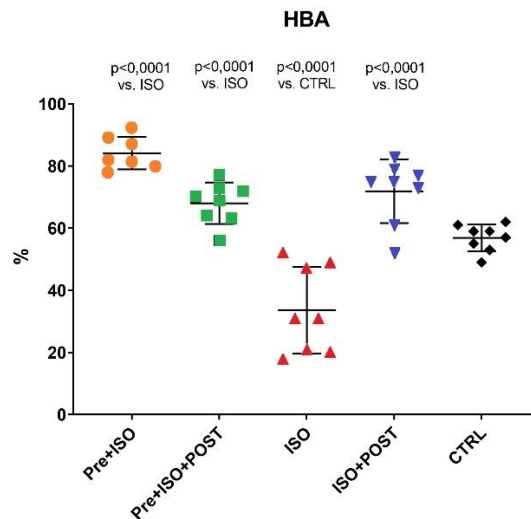
A szérumban a tesztoszteronszintet a kísérleti időszak végén minden csoportban megmértük. Amint a 2. ábrán látható, a fő androgénhormon, a tesztoszteron szérumban a koncentrációja az izoproterenol hatására jelentősen csökkent a kontrollcsoportéhoz képest. A kezelés előtti úszás (PRE) vagy a kezelés utáni úszás (POST) külön-külön szignifikáns növekedést idézett elő a tesztoszteron szintjében a nem edzett ISO csoportéhoz képest. Sőt, a kezelés előtti és utáni úszás kombinációja (PRE+ISO+POST) kétszer magasabb androgénszintet eredményezett, mint akár a kezelés előtti, akár a kezelés utáni edzés.



**2. ábra.** A szérumban a tesztoszteronszint (ng/dl) változása az izoproterenol-kezelés és az edzés hatására. Az eredmények átlag  $\pm$  S.D.,  $n = 8-9$ /csoport, egyirányú ANOVA, Tukey-féle eljárás. A kezelési csoportok közötti szignifikáns különbségeket pontos p-értékekkel mutatjuk be. PRE = úszás előtti, ISO = izoproterenol injekció, POST = úszás utáni, CTRL = kontrollcsoport.

### *I/b. Hialuronsav-kötődési vizsgálat*

A hialuronsav-kötődési vizsgálat (HBA<sup>®</sup>) eredményei szignifikánsan csökkentek az izoproterenollal kezelt állatokban a kontroll csoporthoz képest, míg a 3 hetes úszástréning, akár az izoproterenol injekció előtt vagy után, akár kombináltan, szignifikánsan növelte a HBA-értékeket (3. ábra).



**3. ábra.** A spermiumok minőségének és érettségének változása (%) az izoproterenol-kezelés és a testedzés hatására. Az eredmények átlag ± S.D., n = 7-8/csoport, egyirányú ANOVA, Tukey utóvizsgálat. A kezelési csoportok közötti szignifikáns különbségeket pontos p-értékekkel mutatjuk be. HBA = Hyaluronan Binding Assay, PRE = úszás előtt, ISO = Izoproterenol injekció, POST= úszás utáni, CTRL = kontroll csoport.

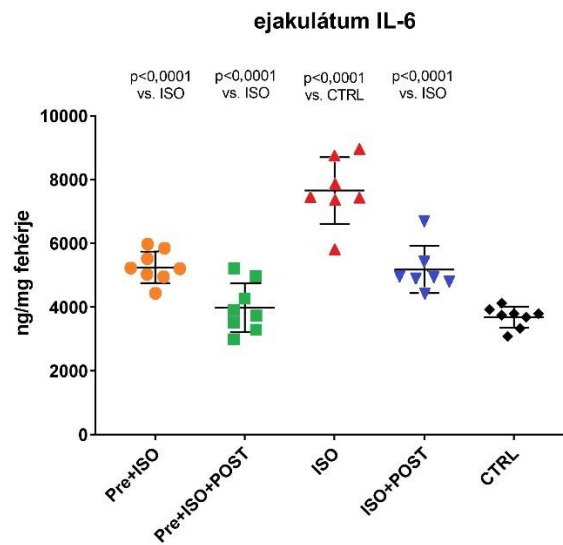
### *I/c. Gyulladásos citokin vizsgálatok*

#### *I/c/1. TNF- $\alpha$ és IL-6 koncentráció meghatározása az ejakulátumban*

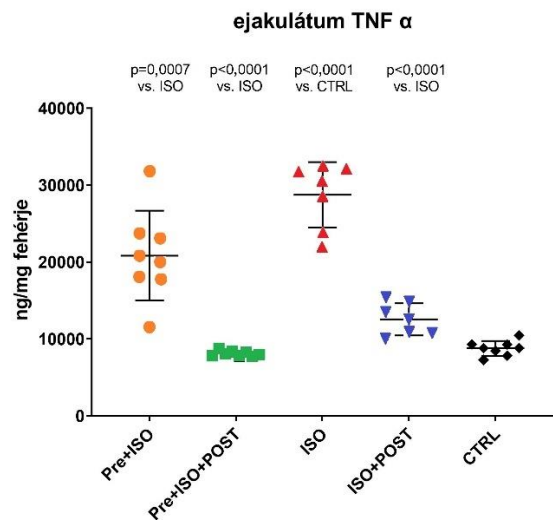
A várakozásoknak megfelelően a spermiumok TNF- $\alpha$  szintje szignifikánsan magasabb volt az izoproterenol beadása után a kontroll csoporthoz képest, és hasonló eredményeket kaptunk az IL-6 koncentrációját tekintve is. A három hetes rendszeres úszás azonban jelentősen mérsékelte a pro-inflammatorikus citokinek ezen emelkedéseit mind a PRE+ISO, mind a POST+ISO csoportokban. A kezelés előtti és utáni kombinált úszóedzés (PRE+ISO+POST) gyakorolta a legkedvezőbb kedvező hatást a TNF- $\alpha$  és az IL-6 koncentrációjára az edzés nélküli izoproterenol-kezelési csoporthoz viszonyítva.

Minden megfigyelt változás statisztikailag szignifikánsnak bizonyult az ISO- és a CTRL-csoportokhoz képest (p < 0,0001 mindkét összehasonlításnál). Az adatokat az 4. ábra mutatja be.

(a)



(b)

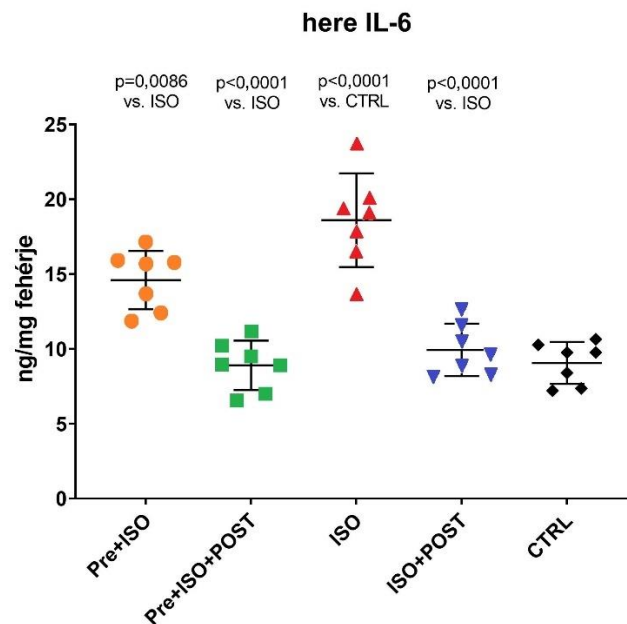


**4. ábra. (a)** Az izoproterenol-kezelés és a testmozgás/edzés hatása az ejakulátum interleukin-6 (IL-6) koncentrációjára, ng/mg fehérjében kifejezve. **(b)** Az izoproterenol-kezelés és a testmozgás/edzés hatása az ejakulátum tumor nekrozis faktor-alfa (TNF- $\alpha$ ) koncentrációjára, ng/mg fehérjében kifejezve. Az eredmények átlag  $\pm$  S.D.,  $n = 7-8$ /csoport, egyirányú ANOVA, Tukey-féle eljárás. A kezelési csoportok közötti szignifikáns különbségeket pontos p-értékekkel mutatjuk be. PRE = úszás előtti, ISO = izoproterenol injekció, POST = úszás utáni, CTRL = kontrollcsoport, TNF- $\alpha$  = tumor nekrozis faktor-alfa, IL-6 = interleukin-6.

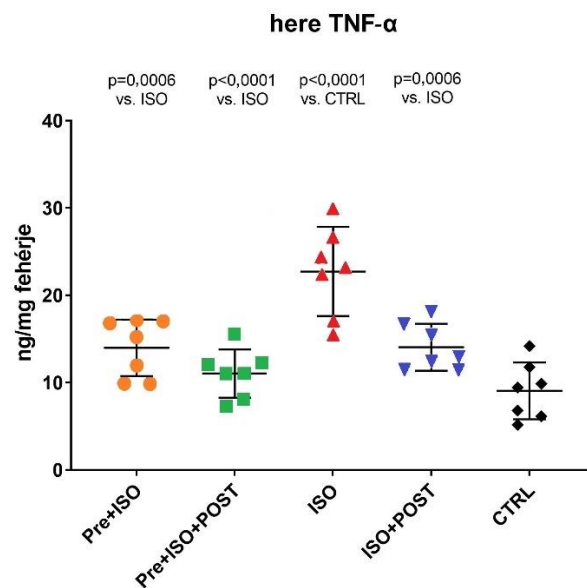
*I/c/2. A herék TNF- $\alpha$  és IL-6 koncentrációjának mérése*

Amint a 5a. ábra mutatja, az izoproterenollal kezelt csoportban a herében az IL-6 koncentráció szignifikáns növekedését észleltük a kontroll állatokhoz képest. Az izoproterenol beadása előtt vagy után végzett úszás mérsékelte az izoproterenol káros hatását, ami a herék IL-6 koncentrációjának szignifikáns csökkenését eredményezte az izoproterenollal kezelt és a kontroll csoporthoz képest. A kezelés előtti és utáni úszásból álló kombinált edzés bizonyult a leghatékonyabbnak az izoproterenol által kiváltott emelkedett IL-6 koncentráció csökkentése szempontjából ( $p < 0,0001$  vs. ISO).

(a)



(b)



**5. ábra.** (a) Az izoproterenol-kezelés és a testmozgás/edzés hatása a herék interleukin-6 (IL-6) koncentrációjára, ng/mg fehérjében kifejezve. (b) Az izoproterenol-kezelés és az edzés hatása a herék tumor nekrosis faktor-alfa (TNF- $\alpha$ ) koncentrációjára, ng/mg fehérjében kifejezve. Az eredmények átlag  $\pm$  S.D.,  $n = 7$ /csoport, egyirányú ANOVA, Tukey-féle eljárás. A kezelési csoportok közötti szignifikáns különbségeket pontos p-értékekkel mutatjuk be. PRE = úszás előtti, ISO = izoproterenol injekció, POST = úszás utáni, CTRL = kontrollcsoport, TNF- $\alpha$  = tumor nekrosis faktor-alfa, IL-6 = interleukin-6.

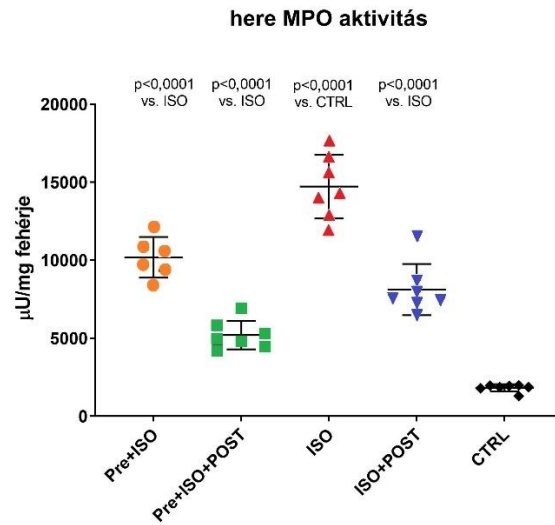
Az IL-6 koncentráció változásához hasonlóan az izoproterenol kezelés szignifikánsan megnövelte a TNF- $\alpha$  szintjét a herében a kontroll (CTRL) csoporthoz képest ( $p < 0,0001$ ). Az úszás edzések ismét hatásosnak bizonyultak a TNF- $\alpha$  szintek csökkentése szempontjából a PRE+ISO és POST+ISO, és különösen a PRE+ISO+POST csoportokban (5b. ábra).

#### *I/d. A mieloperoxidáz aktivitás meghatározása*

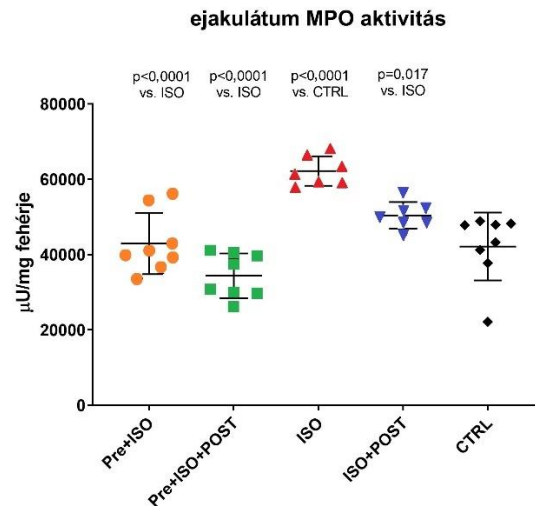
Az ejakulátumban és a herében a gyulladásos citokinszintekben észlelt változásokhoz hasonlóan a MPO aktivitás is szignifikánsan magasabb volt az izoproterenollal kezelt állatokban, mint a kontroll patkányokban. Eredményeink alapján a herékkel és az ejakulátummal kapcsolatos gyulladásos folyamatokat a rendszeres fizikai aktivitás enyhíti: a PRE+ISO és POST+ISO csoportokban a MPO aktivitás szignifikáns csökkenését észleltük az izoproterenollal kezelt és a CTRL csoportokhoz képest ( $p < 0,0001$  mindkét összehasonlításnál). Továbbá a kezelés előtti és utáni úszás (PRE+ISO+POST) együttesen váltotta ki a mieloperoxidáz

aktivitás legnagyobb mértékű csökkenését a csak izoproterenollal kezelt csoporthoz képest ( $p < 0,0001$ ) (6a. ábra).

(a)



(b)

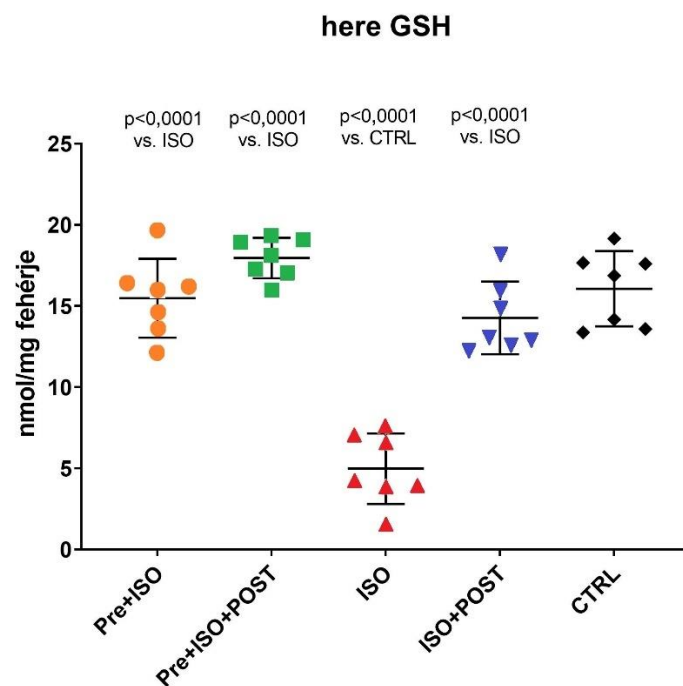


**6. ábra.** (a) Az izoproterenol-kezelés és a testedzés hatása a herék mieloperoxidáz (MPO) enzimaktivitására (kifejezve:  $\mu\text{U/mg}$  fehérje). (b) Az izoproterenol-kezelés és a testedzés hatása az ejakulátum mieloperoxidáz (MPO) enzimaktivitására,  $\mu\text{U/mg}$  fehérjében kifejezve. Az eredmények átlag  $\pm$  S.D.,  $n = 6-8$ /csoport, egyirányú ANOVA, Tukey-féle eljárás. A kezelési csoportok közötti szignifikáns különbségeket pontos p-értékekkel mutatjuk be. PRE = úszás előtti, ISO = izoproterenol injekció, POST = úszás utáni, CTRL = kontrollcsoport, MPO = mieloperoxidáz enzim.

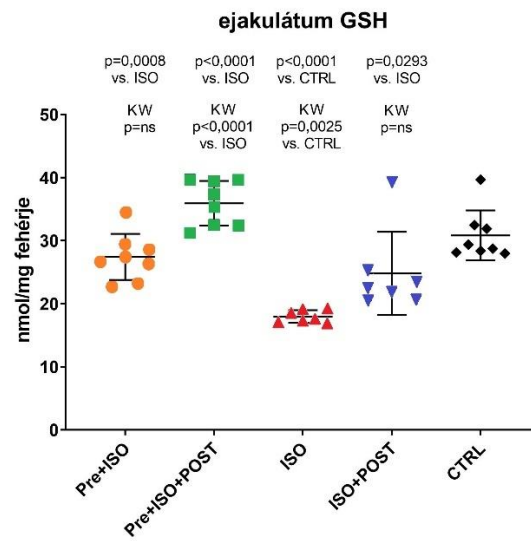
*I/e. A here és az ejakulátum glutation (GSH + GSSG) tartalmának értékelése*

A kontroll állatokhoz képest a GSH szintje szignifikánsan csökkent mind az ejakulátumban, mind a herében ( $p < 0,0001$ ); az izoproterenol kezelés előtti vagy utáni rendszeres úszás azonban jelentősen javította a herék és az ejakulátum antioxidáns státuszát. Ismét a kezelés előtti és utáni kombinált edzés eredményezte a GSH-értékek legnagyobb javulását: a változások szignifikánsak voltak mind a CTRL-, mind az ISO-csoporthoz képest ( $p < 0,0001$  mindkét összehasonlításnál). Az adatokat a 7a. ábra a herékre és a 7b. ábra az ejakulátumra vonatkozóan mutatja be.

(a)



(b)

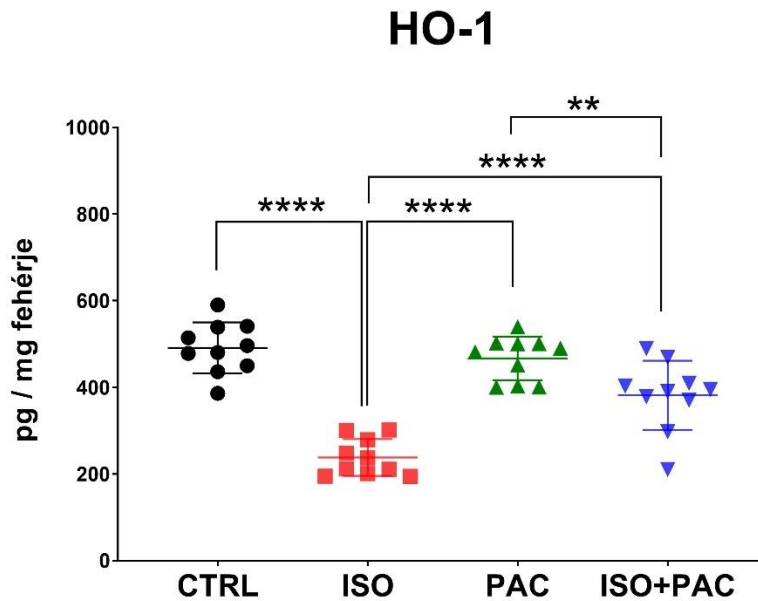


**7.ábra. (a)** Az izoproterenol-kezelés és a testedzés hatása a redukált/oxidált glutation (GSH) tartalom arányára a herében, nmol/mg fehérjében kifejezve. **(b)** Az izoproterenol-kezelés és a testmozgás-edzés hatása a redukált/oxidált glutation (GSH) tartalom arányára, nmol/mg fehérjében kifejezve. Az eredmények átlag  $\pm$  S.D., n = 7-8/csoport, egyirányú ANOVA, Tukey-féle post hoc teszt. A kezelési csoportok közötti szignifikáns különbségeket pontos p-értékekkel mutatjuk be. PRE = úszás előtti, ISO = izoproterenol injekció, POST = úszás utáni, CTRL = kontrollcsoport, GSH = teljes glutation.

## II. Vizsgálat: A paclitaxel és hatásai a szívizomban

### II/a. Hem-oxigenáz-1 fehérje expressziója

A HO-1 fehérje koncentrációja jelentősen csökkent az izoproterenol-kezelés hatására, míg a paclitaxel önmagában nem befolyásolta a HO-1 fehérje expresszióját a normál patkányszívokban. Amikor a paclitaxelt izoproterenollal együtt adtuk, a HO-1 koncentrációja nem különbözött a kontrollszinttől (8. ábra).

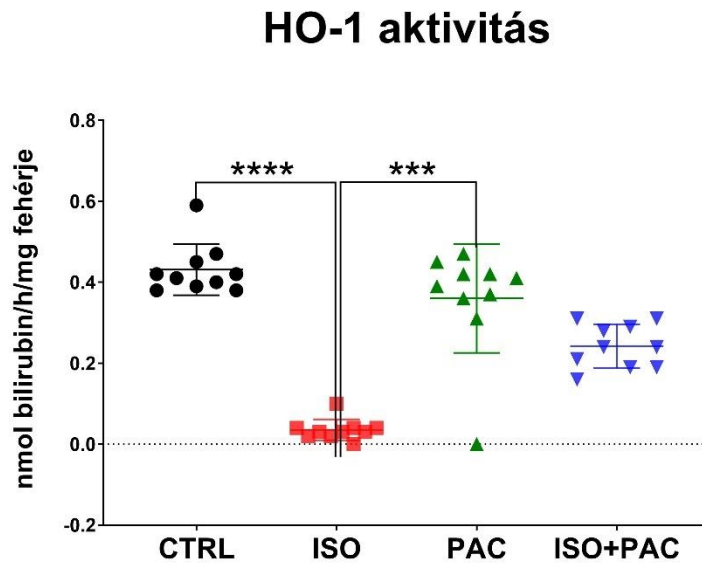


**8. ábra.** A hemoxigenáz-1 fehérje koncentrációja CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívokban.

\*\* :  $p < 0,01$ ; \*\*\*\* :  $p < 0,0001$ .

### II/b. A hem-oxigenáz fehérje aktivitása

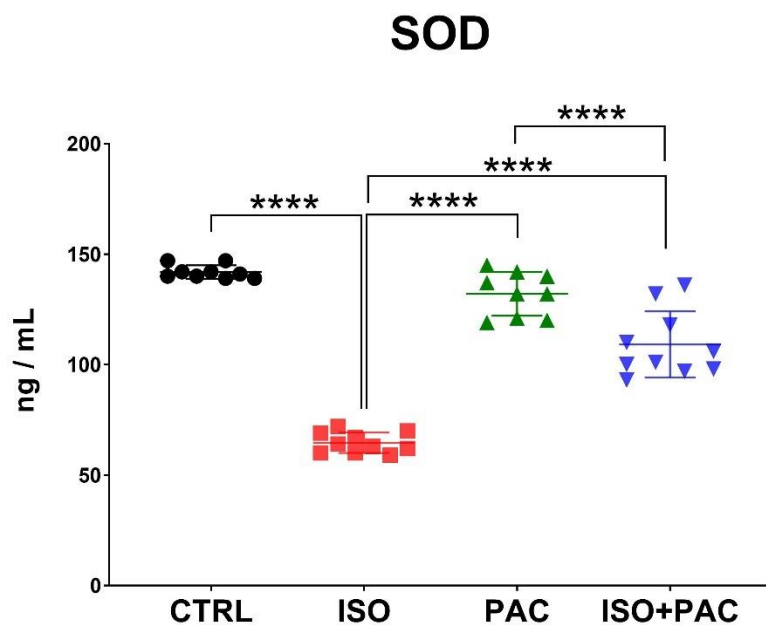
A hem-oxigenáz aktivitása szintén jelentősen csökkent izoproterenol-kezelés hatására, míg a paclitaxel önmagában nem befolyásolta az enzim aktivitását a patkányszívekben. Amikor a paclitaxelt izoproterenollal együtt adtuk, a HO aktivitása statisztikailag nem különbözött az izoproterenol által elnyomott aktivitástól (9. ábra).



**9. ábra.** A hem-oxigenáz aktivitás CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívekben. \*\*\*:  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*:  $p < 0,0001$

### II/c. Szuperoxid-dizmutáz koncentrációja

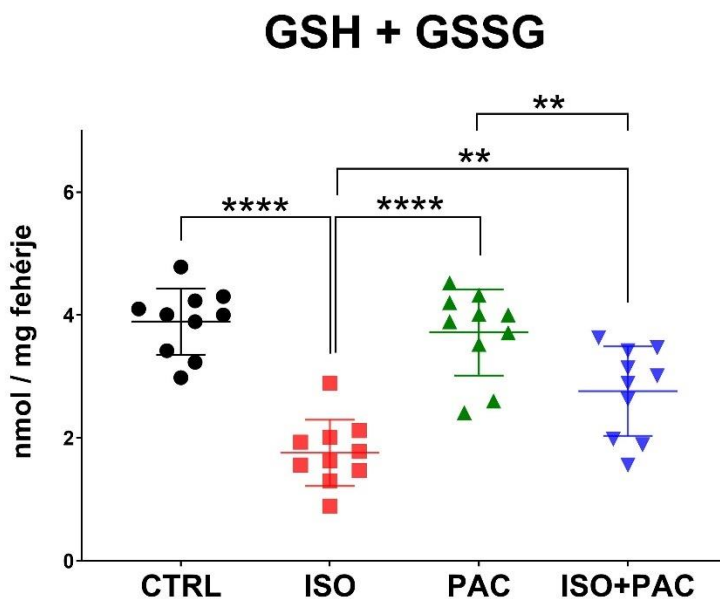
A SOD fehérje koncentrációja szignifikánsan csökkent a csak izoproterenollal kezelt csoportban, míg a paclitaxel önmagában nem befolyásolta a fehérje expresszióját a kontroll szívekben. Amikor a paclitaxelt izoproterenollal együtt adtuk, a SOD koncentráció visszatért a kontroll szinthez, és nem volt statisztikailag szignifikáns különbség a csoportok között (10. ábra).



**10. ábra.** A szuperoxid-dizmutáz koncentrációja CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívekben. \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ .

#### *II/d. Teljes glutation tartalom*

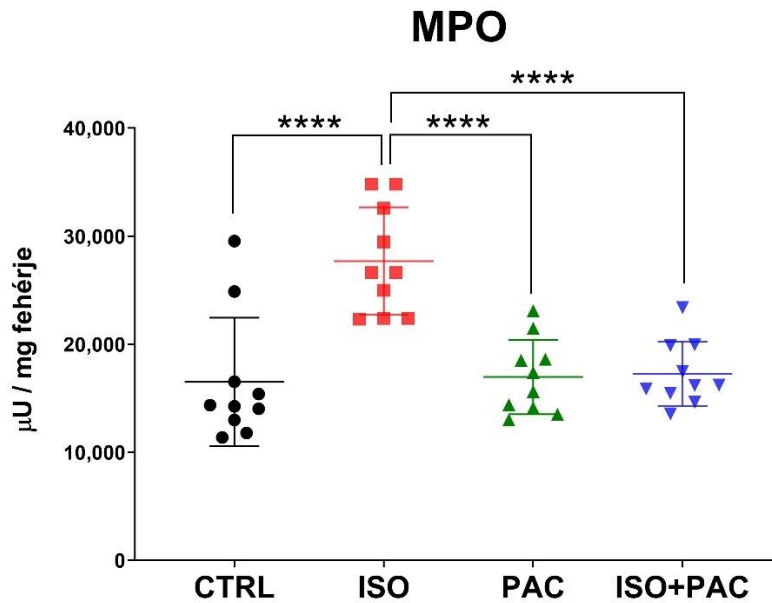
Az összes glutation szintje csökkent az izoproterenol adagolásával, de kontroll csoportéval azonos szinten maradt, amikor csak paclitaxelt alkalmaztunk. Az izoproterenollal és paclitaxellel történő együttes kezelés szignifikánsan növelte az összglutacion-szintet a csak izoproterenollal kezelt csoporthoz képest, anélkül, hogy a kontroll csoporthoz képest különbség lett volna (11. ábra).



**11. ábra.** Teljes glutation szintek CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívekben. \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ .

### II/e. Mieloperoxidáz aktivitás

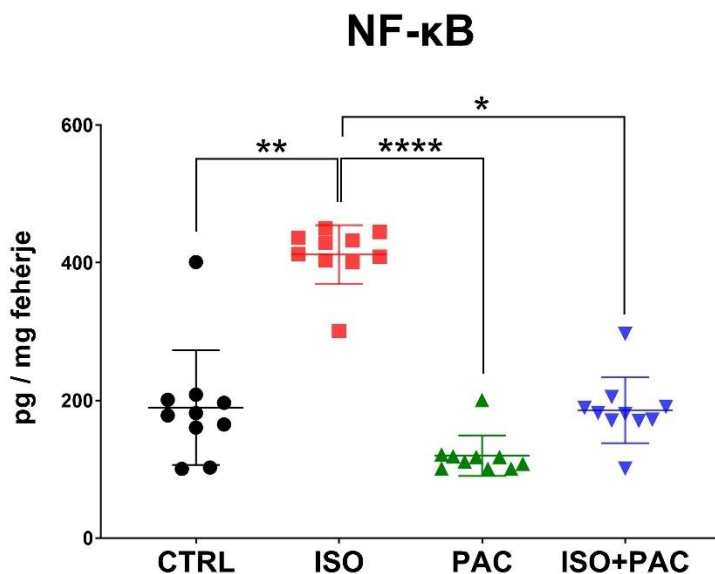
A mieloperoxidáz aktivitás megnőtt az izoproterenollal kezelt csoportban, ami a paclitaxel együttes adagolásával visszaállt a kontrollszintre. A paclitaxel önmagában nem volt hatással az mieloperoxidáz aktivitásra (12. ábra).



12. ábra. Mieloperoxidáz-aktivitás CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívemben. \*\*\*\*\*:  $p < 0,0001$ .

### II/f. NF- $\kappa$ B fehérje expresszió

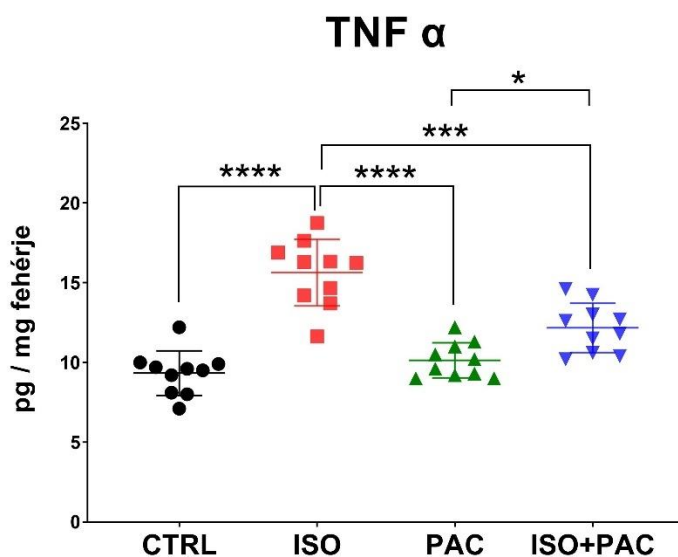
Az izoproterenol jelentősen megnövelte a NF- $\kappa$ B koncentrációját, míg a paclitaxel önmagában nem volt hatással az expressziójára. Amikor a paclitaxelt izoproterenollal együtt adtuk, az NF- $\kappa$ B szintje helyreállt, és nem volt szignifikáns különbség a kontrollhoz képest. (13. ábra)



**13. ábra.** Nukleáris faktor-κB fehérje a CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívekben. \*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ .

#### *II/g. TNF-α fehérje expresszió*

A TNF-α fehérje koncentrációja jelentősen megnőtt a csak izoproterenollal kezelt csoportban, míg a paclitaxel önmagában nem befolyásolta a fehérje expresszióját a kontroll szívekben. A paclitaxel együttes adása esetén a TNF-α szintje csökkent az izoproterenol önmagában történő adásához képest, és nem különbözött szignifikánsan a kontrolltól (14. ábra).



**14. ábra.** Tumor nekrosis faktor-α fehérje koncentráció a CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívekben. \*:  $p < 0,05$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ .

## 6. Megbeszélés

### I. A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata

Első kísérletsorozatunk azt mutatja, hogy az izoproterenol indukált oxidatív stressz elősegíti a steril heregyulladást és a hormonális egyensúly felborulását, amelyet alacsony tesztoszteron koncentráció és a herék antioxidáns kapacitásának csökkenése jellemez, ezen folyamatok végül az érett/éretlen spermiumok arányának csökkenéséhez vezetnek. Ezen káros változások összefüggésbe hozhatók a férfi megtermékenyítő képesség csökkenésével, illetve a férfi meddőséggel.

Az oxidatív stressznek a hímivarsejtekre gyakorolt negatív hatásaival kapcsolatos megállapításaink reprodukív rendszerre gyakorolt hatása összhangban van számos olyan vizsgálattal, amelyek szerint az oxidatív stressz herefunkció zavarokat okoz. Ezek a vizsgálatok arra is utalnak, hogy a here miliójában az oxidatív stressz DNS-károsodással és rendellenes hímivarsejt termeléssel jár, ami a csökkent férfi termékenység növekvő gyakoriságát magyarázza [50-52]. Sőt, az oxidatív stresszfaktorok a vizsgálatok szerint ok-okozati szerepet játszanak a spermiumok rendellenességeinek és a herék rendellenes működésének kialakulásában [53;54].

Egy korábbi tanulmányban Wagner és munkatársai összefoglalták, hogy a ROS a férfi meddőség egyik potenciális tényezői, amelyről az 1940-es évek óta számoltak be az irodalomban. A spermiumok hibás működéséhez vezető oxidatív stresszt a korai tanulmányokban mutatták ki, amelyek a peroxil- ( $\text{ROO}^\cdot$ ) és hidroxil ( $\text{OH}^\cdot$ ) gyökök, a szuperoxid ( $\text{O}_2^\cdot$ ) anion, a  $\text{H}_2\text{O}_2$ , a nitrogén-monoxid (NO) és a peroxinitrit anion ( $\text{ONOO}^\cdot$ ) spermiumok anyagcseréjére és mozgékonyására gyakorolt toxikus hatását szemléltették [55]. A kiváltó ágensektől függetlenül az oxidatív stressz (pl. a kísérletünkben alkalmazott izoproterenol kezelés) felborítja az oxidáns/antioxidáns egyensúlyt, és befolyásolja az érrendszeri tónust és a herék véráramlását. Nagyon valószínű, hogy a csökkent véráramlás, valamint a hereszövet közvetlen oxidatív károsodása hatással van a tesztoszteron szintre; a csökkent tesztoszteron termelésnek az izoproterenol Leydig-sejtekre gyakorolt közvetlen negatív hatásából vagy a Leydig-sejtek vérellátásának csökkenéséből kell származnia. Az is valószínű, hogy az izoproterenol által kiváltott oxidatív stressz és ebből következően a herék csökkent vérellátása, a tesztoszteron szekréció csökkenésével együtt, csökkenti a spermiumok hialuronsav-kötődését (a hialuronsav-kötő receptor expresszióját a sejtfelszínen), ahogyan azt jelen

kísérletünkben kimutattuk. Emellett patkánymodellünkben mind a herében, mind az izoproterenollal kezelt állatok ejakulátumában szignifikánsan alacsonyabb GSH szintet találtunk, ami arra utal, hogy az izoproterenol által kiváltott herekárosodás tönkretette a szövet antioxidáns védelmét. A here csökkent GSH szintje szerepet játszhat a tesztoszteron bioszintézisének károsodásában is az izoproterenol kezelést követően.

A GSH egy tiol-tartalmú tripeptid, amely gyakorlatilag minden sejtben jelen van, és döntő szerepet játszik a sejtek antioxidáns védelmében. A GSH kulcsfontosságú antioxidánsként eltávolítja a sejtekből a hidrogén-peroxidot és a szerves peroxidokat, ezért szintjének csökkenése a ROS fokozott termelődéséhez vezet [56]. Az izoproterenol további káros hatásait mutatták ki Turner és munkatársai 2008-as tanulmányukban, mely szerint a fokozott oxidatív stressz és az ebből következő antioxidáns deficit kiváltó tényezője lehet az izoproterenol által kiváltott szöveti károsodásnak [52]. Kísérleteinkkel azt is kimutattuk, hogy az izoproterenol indukált oxidatív stressz a MPO/TNF- $\alpha$ /IL-6 *up-regulációján* keresztül gyulladással generál, ami szintén hozzájárulhat a tesztoszteron-koncentráció csökkenéséhez és az érett spermiumok csökkent arányához, ami szubfertilitáshoz vagy infertilitáshoz vezethet. Fontos megjegyezni, hogy a MPO a neutrofil granulocitákban és monocitákban kifejeződő enzim és a neutrofilek oxidáns termelésének kulcsfontosságú eleme. A MPO emelkedett szérumszintje gyulladással, neutrofil infiltrációval és fokozott oxidatív stresszel jár együtt [57;58]. A ROS által aktivált neutrofilek, ahogyan az izoproterenol kezelt csoportban is megfigyelhető volt, az oxigén-metabolitok termelésén és a citotoxikus MPO enzim aktiválásán keresztül súlyosbítják a szöveti sérülést. Vizsgálatunkban megnövekedett MPO aktivitást észleltünk az izoproterenol kezelést követően, ami arra utal, hogy az izoproterenol által a hereszövetekben okozott oxidatív stressz neutrofil felhalmozódással jár. Patkánymodellünkben azonban az izoproterenol negatív hatásait a mérsékelt úszó edzés enyhítette.

Érdekes módon a testmozgás/edzés hereműködésre gyakorolt hatásáról szóló irodalmi adatok ellentmondásosak. Arról számoltak be, hogy a nagy intenzitású fizikai aktivitás hozzájárulhat az oxidatív stressz kialakulásához a hím reproduktív rendszerben, így zavarhatja a hím termékenységet [22]. Továbbá az intenzív úszóedzés (3 óra/nap, heti 5 napon át 6 héten keresztül) szintén bizonyítottan oxidatív stresszt vált ki a férfi reproduktív rendszerben [59]. Ezzel szemben Yi és

munkatársai arról számoltak be, hogy a mérsékelt intenzitású testmozgás képes enyhíteni a herék oxidatív stresszét és a gyulladásos válaszokat, míg a nagy intenzitású fizikai aktivitás ismét károsnak bizonyult ebből a szempontból. Hasonlóképpen azt is kimutatták, hogy a mérsékelt intenzitású testmozgás csökkenti az elhízás negatív hatásait a férfi reprodukív funkciókra azáltal, hogy csökkenti a herék oxidatív stresszét és gyulladását [58].

A jelen kísérletsorozatunkban a kezelés előtti és/vagy utáni mérsékelt úszás hatását vizsgáltuk az izoproterenol által kiváltott gyulladásos válasz és a GSH közvetített antioxidáns rendszer csökkent kapacitása elleni védelem érdekében. Figyelemre méltó, hogy más típusú fizikai tevékenységekkel (pl. futás) szemben az úszásnak az az előnye, hogy minimalizálja a herék hőmérséklet emelkedését, amely bizonyítottan káros hatással van a spermiumokra. Legjobb tudomásunk szerint a mi vizsgálatunk az első, amelynek célja annak tisztázása, hogy a mérsékelt úszóedzésnek van-e védő szerepe az oxidatív stressz által kiváltott heregyulladás szemben patkánymodellben. A fizikai aktivitás szív- és érrendszerre gyakorolt védő hatását széles körben tanulmányozták, azonban a hím reprodukív rendszerre gyakorolt potenciális előnyei kevésbé jól jellemzettek. Az izoproterenol-indukált oxidatív stressz kardiovaszkuláris következményeire összpontosító korábbi kutatásaink kimutatták, hogy a rekreációs futókerektes testmozgás enyhítheti a szívizom infarktus méretét [60] és javíthatja az antioxidáns státuszt izoproterenol kezelést követően petefészek-intakt és farmakológiai ösztrogénhiányos nőstény patkányokban [20].

Eredményeink azt mutatják, hogy akár a kezelés előtti, akár a kezelés utáni úszás önmagában is hatékony az izoproterenol által kiváltott káros hatások ellen; a legjelentősebb előny azonban a kombinált, 'kezelés előtti és utáni úszás' csoportban mutatkozott, ami azt jelzi, hogy a mérsékelt fizikai aktivitás (úszás) erős potenciállal rendelkezik az izoproterenol által kiváltott gyulladás és az antioxidáns kapacitás eltolódásának javítására.

A mérsékelt intenzitású úszóedzés javította az antioxidáns státuszt, az endogén antioxidáns enzim, a glutation csökkent aktivitásának fokozása révén, továbbá, a herékben és az ejakulátumban megnövekedett MPO aktivitást sikeresen visszafordította.

Hipotézisünk további alátámasztására a pro-inflammatorikus citokinek szérumszintjét is megmértük. A hím patkányok hereszövetének és ejakulátumának

elemzése kimutatta, hogy a mérsékelt intenzitású úszás az IL-6 és TNF- $\alpha$  szintjének csökkenésével járt együtt, ami tovább erősíti, hogy a rendszeres fizikai aktivitás csökkentheti a heregyulladást. Ezek a megfigyelések összhangban vannak a glutation aktivitás, a szérum tesztoszteronszint és az ejakulátum HBA-analízisének eredményeivel.

Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a HBA vizsgálat alkalmas, könnyen kivitelezhető és standardizálható vizsgálat az andrológiai klinikai gyakorlatban a klasszikus ejakulátum analízis eredményei mellett, azok kiegészítéseként a férfi megtermékenyítő képesség meghatározására [47]. Szintén klinikai vizsgálat során bizonyítottuk, hogy a testtömeg index (BMI) összefügg a férfi megtermékenyítő képességgel, melyet HBA és az abból képzett HB-MaSC (Hyaluronan Bound Matured Sperm Count) értékekkel is alátámasztottunk [48]. Eredményeink szintén összhangban vannak a Yi és munkatársai által leírtakkal [61]. Korábbi *in vitro* vizsgálatok megállapították, hogy a TNF- $\alpha$  a Leydig-sejtek működésének hatékony gátlója: gátolja mind a citokróm P450<sub>scc</sub> (side-chain cleavage), mind az Inzulin like Growth Factor-1 (IGF-1) mRNS génexpresszióját [62].

Ezen korábbi eredmények és a jelen vizsgálat eredményei alapján úgy véljük, hogy a mérsékelt intenzitású úszás az oxidatív stressz csökkentésével gátolhatja a pro-inflammatorikus citokineket, ami az antiinflammatorikus citokinek fokozásával elősegítheti a tesztoszteron szintézist. Egy férfiaknál végzett vizsgálat azt is kimutatta, hogy a testmozgás csökkentette a neutrofilek szérum koncentrációját, és csökkentette az IL-6 és TNF- $\alpha$  szintézisét [62]. Számos tanulmány rámutat arra, hogy az IL-6 kulcsszerepet játszik ebben a folyamatban, mivel képes modulálni a gyulladásos folyamatban részt vevő egyéb pleiotróp citokinek (pl. TNF- $\alpha$ ) termelését, amelyek a gyulladásos válasz kezdetén szekretálódnak és lokálisan, a sérülés helyén hatnak. Vizsgálatunkban izoproterenol injekciót alkalmaztunk, melynek következtében a hím patkányok hereszövevei magas oxidatív stressz és magas gyulladásos válasz állapotában vannak. Ezt támasztja alá az MPO, az IL-6 és a TNF- $\alpha$  emelkedett szintje, valamint a GSH csökkent szintje. A hereszövet molekuláris és biokémiai változásai mellett az ejakulátumban is mélyreható változások jelennek meg. A legújabb tanulmányok alátámasztják, hogy egyre több káros környezeti tényező, például a nehézfémek vagy a légszennyezés tovább befolyásolhatja az ejakulátum nukleáris alapfehérjét, ezáltal súlyos DNS-károsodást okozva, és végső soron rontva az ondó minőségét [64;65]. A környezeti állapot

mellett az életmód is károsan befolyásolja a spermiumok érését, morfológiáját és mozgékonyosságát.

Megállapítottuk, hogy az érett, hialuronsav kötő képességgel rendelkező spermiumok százalékos aránya jelentősen javult a testmozgás hatására.

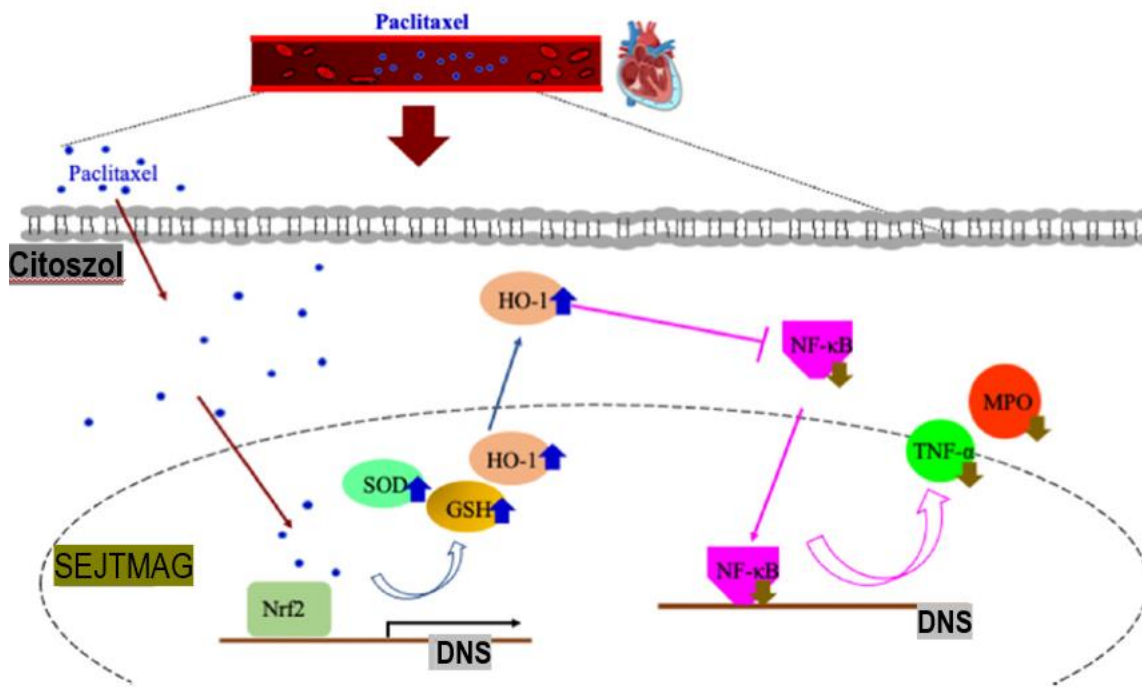
Eredményeink alapján az antioxidáns védelmi rendszer megzavarása és az emelkedett gyulladás káros hatással van a férfi reproduktív rendszerre, ami herekárosodást és kedvezőtlen változásokat okozhat az ondóban. A mérsékelt intenzitású úszóedzés azonban jelentős védőhatással bírhat a herék oxidatív stresszével és gyulladásával szemben, valamint javíthatja az érett/éretlen spermiumok arányát.

## II. A paclitaxel és hatásai a szívizomban

Az izoproterenollal és paclitaxellel végzett kísérletsorozatunk fő eredménye, hogy a paclitaxel védte a szívizmot az izoproterenol által kiváltott károsodással szemben azáltal, hogy csökkentette a gyulladásos citokinek szintjét és növelte az antioxidáns és gyulladáscsökkentő molekulák koncentrációját. Az izoproterenol adása a gyulladásos molekulák NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  és MPO szint jelentős emelkedéséhez vezetett, ugyanakkor kimerítette vagy gátolta az antioxidáns és gyulladásgátló molekulák HO-1, SOD és GSH aktivitását a bal kamra szövetében. Másrészt, ha izoproterenollal együtt adtuk, a paclitaxel visszaállította e molekulák szintjét a kontroll szintek felé. Ez az eredmény összhangban van Cao és munkatársai megállapításával, akik arról számoltak be, hogy a taxol 30 perces adagolása az érlekötés által kiváltott iszkémia során a HO-1 fehérje expressziójának jelentős növekedéséhez vezetett a patkányszívben [42]. A megnövekedett fehérjekoncentráció a ROS-szint csökkenésével és az I. és III. mitokondriális komplexek aktivitásának fenntartásával járt együtt. A HO-1 egy stressz-indukált fehérje, amely döntő szerepet játszik a hem metabolizmusban, katalizálva annak szabad vassá, szén-monoxiddá (CO) és biliverdinné történő átalakulását [66]. A biliverdin/bilirubin és a CO gyulladáscsökkentő, antiapoptotikus és antioxidáns tulajdonságokkal rendelkezik; ezáltal a HO-1 fehérje expressziójának helyreállítása vizsgálatunkban hozzájárulhat a szívizomkárosodással szembeni ellenálláshoz. Másrészt tenyésztett szívizomsejtekben a paclitaxel önmagában vagy angiotenzin II-vel kombinálva apoptózist indukált, amit a fokozott kaszpáz-3 aktivitás és a terminális dezoxi-nukleotidil-transzferáz által közvetített dUTP nick end-labelling (TUNEL) vizsgálat jelzett [67]. Ezek az eltérő eredmények az ezekben a kísérletekben használt különböző modellekkel magyarázhatók. Továbbá úgy tűnik, hogy a paclitaxel nagy dózisban káros lehet, mivel a mi vizsgálatunkhoz hasonlóan azok a tanulmányok, amelyek a szív- és érrendszerben védő hatásról számoltak be, a mi vizsgálatunkhoz hasonlóan alacsonyabb paclitaxel-dózist használtak (akár 1 M vs. 1-10  $\mu$ M). Kang és munkatársai kimutatták, hogy 1  $\mu$ M feletti dózisok növelték a gyulladásos és csökkentették a gyulladáscsökkentő citokin szinteket a simaizomsejtekből származó habos sejtekben [45].

A hem-oxigenáz-1-hez hasonlóan a paclitaxel együttes adagolásakor a szuperoxid dizmutáz koncentráció és az összes glutation szint is jelentősen eltért az ISO csoportban mért, csökkent szinttől, bár a jelenlegi vizsgálatban nem tértek vissza

teljesen a kontroll értékekhez. Elképzelhető, hogy a paclitaxel ezen hatása a HO-1 expresszióján keresztül valósult meg, mivel Eltobshy és munkatársai kimutatták egy szívizomkárosodási modellben, hogy a HO-1 kémiai indukciója a GSH és a SOD aktivitás növekedését eredményezte az izoproterenol által kiváltott csökkenéshez képest [68]. A GSH közvetlen antioxidánsként működik, segít más antioxidánsok újrahasznosításában és véd a gyulladási válaszok ellen, így, ha kimerül, a sejtek redox-környezete pro-oxidáns állapotba változik [69]. A SOD egy enzimikus védőmolekula, amely közvetlenül alakítja át a szuperoxid gyököket és a hidrogénperoxidot kevésbé reaktív gyökökké [70]. Valószínű, hogy a paclitaxel antioxidáns funkciója a Nukleáris faktor erythroid 2-related factor2 (Nrf2) transzkripciós faktor aktiválásán keresztül nyilvánul meg, amely szabályozza az összes mért védőmolekula expresszióját; a HO-1, a GSH és a SOD, [71] a glutation-reduktáz (GSR) szabályozásán keresztül a GSH redox állapotát is módosítja [69]. Az antioxidáns és gyulladáscsökkentő fehérje expressziójának serkentése mellett a paclitaxel-kezelés a gyulladási molekulákat is elnyomta a patkányszívben. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy az izoproterenol az oxidatív stressz és a gyulladás elősegítésével fejt ki a szívet károsító hatását [46;72]. A MPO-t gyulladási markernek tekintik, amelynek aktivitása doxorubicin beadásával megnő, és az antioxidáns vegyületekkel történő előkezelés hatékonyan ellensúlyozhatja ezt az emelkedést. [73] Az MPO előre jelezte a koszorúér-betegség és a kardiovaszkuláris halálozás kockázatát is a koronária angiográfián átesett betegeknél [74]. A MPO, a TNF- $\alpha$  és az NF- $\kappa$ B szintjei mind csökkentek, amikor modellünkben paclitaxelt izoproterenollal együtt alkalmaztunk; a ROS-szinteket azonban a jelenlegi vizsgálatban nem mértük. Ezért nem tudjuk biztosan kijelenteni, hogy ezt a hatást az oxidáns-termelés elnyomása vagy a ROS fokozott elszívása révén értük-e el. Érdekes módon Cao és munkatársai kimutatták, hogy a taxol infúziója a szív iszkémiája során fenntartotta a mitokondriális-komplex-I aktivitást, amely szerepet játszik a ROS és a sejthalál elleni védelemben [42;75].



**15. ábra.** A paclitaxel kardioprotektív hatásának mechanizmusa.

A fokozott HO-1 expresszió az egyik lehetséges mechanizmus, amely hozzájárult ezekhez a hatásokhoz (15. ábra). Diabéteszes egerekben kimutatták, hogy a szívizom szuperoxid-szintje mellett a plazma TNF- $\alpha$  szintje is csökkent a kémiai indukált HO-1 emelkedés hatására [76]. Mivel a TNF- $\alpha$  az NF- $\kappa$ B egyik fő aktivátora, a mi vizsgálatunkban a csökkent expresszió valószínűleg ennek a kanonikus pro-inflammatorikus jelátviteli útvonalnak a szuppresszióját eredményezte [77].

A mi eredményeinkkel ellentétben a paclitaxel adása megnövelte a szívizom TNF- $\alpha$  koncentrációját és az apoptózist egerekben, ahogyan azt Ren és munkatársai kimutatták [50], vizsgálatunkban a paclitaxelt három naponként három hónapon keresztül intraperitoneális injekcióval adták be, míg a mi protokollunkban a 10 mg/kg paclitaxel adagot öt napon keresztül, szájon át, fecskendezéssel adtuk be, Kim és munkatársai vizsgálata alapján [49]. Ezért úgy tűnik, hogy a pontos dózis, a beadás időtartama, módja és maga az állatmodell is kritikus fontosságú a paclitaxel-kezelésben, mivel ezek határozzák meg a gyógyszerrel szembeni szöveti expozíciót. Korábbi vizsgálatok alapján a gyógyszer toxicitása akkor alakul ki, ha a magas paclitaxel-szinteket öt órán túli, hosszabb ideig tartják fenn [49;78]. Fontos, hogy a 25 $\mu$ g vs. 125 $\mu$ g paclitaxel adagolása egy bevonatos sztenten determinálta a gyógyszer miokardiális koncentrációját, a nagy dózisú sztent esetében körülbelül tízszeres növekedés volt tapasztalható az alkalmazott alacsony dózishoz képest [79].

A korábbi kutatásokkal [44;67] ellentétben jelen vizsgálatunkban a paclitaxel önmagában történő beadása nem befolyásolta a mért molekulák egyikének szintjét sem a kamrákban, izoproterenol-indukált károsodás nélkül. Mások is kimutatták, hogy a paclitaxel normoxia alatt izolált patkányszívekben nem okozott szívizomkárosodást [36]. Eredményeink alapján a jelenlegi vizsgálatban alkalmazott orális adagolással megelőzhető a helyi toxicitás [49]. A jelenlegi vizsgálat korlátai közé tartoznak a szívkárosodás morfológiai mutatóinak vagy a mikrotubuláris struktúrák mérésének hiánya. Jól ismert azonban, hogy az izoproterenol az emberben tapasztaltakhoz hasonló strukturális és funkcionális változásokat vált ki a patkányok szívizomzatában [46;71].

A jövőbeni vizsgálatoknak más citokinek, például az interleukin család tagjainak (pl. IL-1, IL-6) szintjét is elemeznünk kell, mivel ezekről bebizonyosodott, hogy szerepet játszanak a szív különböző gyulladásos állapotaiban, a korábbi vizsgálatok alapján az IL-1 blokkolása csökkentette a doxorubicin által kiváltott károsodást a szívizomban, ami potenciális célpontra utalhat az izoproterenol által károsított modellben is. [80;81]

A továbbiakban hasznos lenne az Nrf2 transzkripció faktor expresszióját is vizsgálni ugyanebben a modellben annak tisztázása érdekében, hogy a paclitaxelnek van-e közvetlen hatása az antioxidáns és gyulladáscsökkentő molekulák *de novo* szintézisére.

## **7. Következtetések**

### **I. A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata**

Első vizsgálatunk alapján, 1mg/kg izoproterenol injekció csökkentette az antioxidáns tulajdonságú GSH termelését és 'up-regulálta' az MPO-IL6-TNF- $\alpha$  gyulladásos útvonalat a herékben és az ondóban, ami stressz által kiváltott herekárosodáshoz vezetett. Ez az első bizonyíték arra, hogy a mérsékelt intenzitású fizikai aktivitás (úszás) hatékonyan enyhítheti az izoproterenol által kiváltott gyulladás és antioxidáns kapacitáskárosodás negatív hatásait a férfi reproduktív rendszerre, így preventív és/vagy terápiás stratégiaként használható a káros hatások, mint például az oxidatív szövetkárosodás, a gyulladásos folyamatok, a csökkent tesztoszteron bioszintézis és a kedvezőtlen érett/éretlen spermium arány ellensúlyozására.

Eredményeink betekintést nyújtanak a mérsékelt úszó edzés kedvező hatásainak biokémiai hátterébe, amely hatékony megközelítésként szolgálhat a férfi termékenység javítására.

A kapott eredmények szintén összecsengenek azon, részben saját klinikai vizsgálatok eredményével, melyek szerint az alacsonyabb BMI nagyobb megtermékenyítő képességet jelez, mivel a rendszeres testmozgás a testtömeg kontroll egyik fontos sarokköve.

### **II. A paclitaxel és hatásai a szívizomban**

Második, a paclitaxel szívizomra gyakorolt védő hatását vizsgáló kutatássorozatunk kimutatta, hogy a paclitaxel orális adagolása hatékonyan fenntartja a fontos antioxidáns és gyulladáscsökkentő molekulák, a HO-1, a SOD és a GSH expresszióját, és csökkenti a TNF- $\alpha$ , MPO és NF- $\kappa$ B termelését, amelyek részt vesznek az oxidatív és gyulladásos folyamatokban a szívizomkárosodás során. Ezen túlmenően úgy tűnik, hogy ennek a sejtes védekezésnek a fő összetevője a HO-1 expressziója, amely képes csökkenteni a ROS-t, a TNF- $\alpha$ -t, és ezáltal az NF- $\kappa$ B jelátvitelt a szívizomban. [42;76;77]

## 8. Összefoglalás

A sejtek homeosztázisának fenntartása a sejtek túlélésének alapfeltétele, a környezeti változásokhoz való alkalmazkodás, ennek kiemelten fontos módszere a redox egyensúly fenntartása, az oxidatív (vagy adott esetben redukív) stressz elleni mechanizmusok. Az oxidatív stresszt a szervezet összes szövete elszenved és számos betegség pathomechanizmusában megtalálható, mint végső, sejtet károsító tényező. Az oxidatív stressz jelátviteli útvonalai csak részben ismertek, illetve szintén nem teljesen tisztázottak azok az intracelluláris mechanizmusok, melyek mediálják a folyamatot.

Első kísérletsorozatunkban az oxidatív stressz káros hatásának visszafordítását vizsgáltuk. Az oxidatív stresszt izoproterenol adásával indukáltuk, majd a kísérleti állatok a fent leírt protokoll szerint mérséklet intenzitású úszóedzésen vettek részt. A három hetes edzési időszakot követően vért, hereszövetet és ejakulátumot gyűjtöttünk. A kísérleti időszak végén megmértük a szérum tesztoszteronszintjét, a spermiumok hialuronsav- kötődését és teljes glutation tartalmát, valamint a mieloperoxidáz aktivitást, a Tumor Nekrózis Faktor alfa és az Interleukin-6 koncentrációját a herében és az ejakulátumban.

A szérum tesztoszteronszintje, a spermiumok hialuronsav-kötése és glutation tartalma szignifikánsan csökkent, míg a mieloperoxidáz, a Tumor Nekrózis Faktor alfa és az interleukin-6 koncentrációja a herében és az ejakulátumban emelkedett az izoproterenol kezelést követően a kontroll csoporthoz képest.

Eredményeinkből egyértelműen látszik, hogy a rendszeres, mérsékelt intenzitású úszóedzés hatékonyan enyhítette az oxidatív stressz negatív hatásait.

Kutatásunk eredményei szolgálhatnak az első bizonyítékként arra, hogy a rendszeres úszás védelmet nyújt az izoproterenol által kiváltott káros, oxidatív hatásokkal szemben a hím reproduktív rendszer gyulladásos paramétereire, így a felállított állatmodellünk alapján következtethetünk arra, hogy a klinikai gyakorlatban is megalapozottan ajánlható mozgásforma az oxidatív stresszt szenvedett herefunkció visszaállítására, illetve megelőzésére

Második vizsgálatunkban szintén az izoproterenol, mint károsító, oxidatív stresszt okozó ágens elleni védekezés intracelluláris mechanizmusait vizsgáltuk paclitaxel

adását követően. A paclitaxel a kardiológiai gyakorlatban gyakran alkalmazott szer, mellyel az intravaszkuláris eszközöket bevonják a resztenózis megelőzése céljából. Hatása erősen dóziszfüggő, melyet korábbi vizsgálatok bizonyítottak.

Kísérletünkben az izoproterenol által károsított miokardium funkció megőrzését vizsgáltuk paclitaxel adása mellett. Eredményeink azt mutatták, hogy a hem-oxigenáz-1 fehérje koncentrációja, a hem-oxigenáz aktivitás, a szuperoxid dizmutáz fehérje koncentrációja és az összes glutation szignifikánsan csökkent az izoproterenol kezelés hatására.

Amikor a paclitaxelt izoproterenollal együtt adtuk, a hem-oxigenáz-1, a szuperoxid dizmutáz koncentrációja és az összes glutation nem különbözött a kontroll szintektől. A mieloperoxidáz aktivitás, az Nukleáris Faktor kappa-B koncentráció és a Tumor Nekrózis Faktor-alfa fehérje koncentrációja szignifikánsan megnőtt a csak izoproterenolt kapott csoportban, míg e molekulák szintje helyreállt, amikor a paclitaxellel együttesen alkalmaztuk.

Vizsgálatunkkal bizonyítottuk, hogy a paclitaxel alkalmazása megvédte a szívizomszövetet az izoproterenol oxidatív stresszt kiváltó káros hatásától, szintén bizonyítást nyert, hogy a szájon át adott paclitaxel az oxidatív és gyulladásozó folyamatokat elnyomja és ezen szupresszió a védő enzimek, mint a szuperoxid dizmutáz és hem-oxigenáz-1 stimulálásán keresztül valósul meg.

## 9. Summary

The maintenance of cellular homeostasis is prerequisite for cell survival, adaptation to environmental changes, and the maintenance of redox balance, mechanisms against oxidative (or, where appropriate, reductive) stress, is a particularly important way sustain it. Oxidative stress is suffered by all tissues of the body and is implicated in the pathomechanism of many diseases as the ultimate cell-damaging factor. The signaling pathways involved in oxidative stress are only partially understood, and the intracellular mechanisms that mediate the process are also not fully understood. In our first experiment, we investigated the reversal of the damaging effects of oxidative stress. In the reproductive system, oxidative stress mainly affects the polyunsaturated fatty acid components of cell membranes and induces inflammatory processes, which are well characterized by the levels of pro-inflammatory cytokines. In this experiment oxidative stress was induced by the administration of isoproterenol, followed by moderate-intensity swimming training of the experimental animals according to the protocol described above. After a three-week training period, blood, testicular tissue and semen were collected. At the end of the experimental period, serum testosterone levels, hyaluronic acid binding potential and total glutathione content of spermatozoa, as well as myeloperoxidase activity, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 concentrations in testis and ejaculate were measured.

Serum testosterone levels, hyaluronic acid binding and glutathione content of spermatozoa were significantly decreased, while myeloperoxidase, Tumor Necrosis Factor-alpha and interleukin-6 concentrations in testis and semen were increased after isoproterenol treatment compared to the control group.

Our results clearly show that regular moderate-intensity swimming training was effective in mitigating the negative effects of oxidative stress.

The results of our study may serve as the first evidence that regular, moderate intensity swimming protects against isoproterenol-induced adverse oxidative effects on inflammatory parameters of the male reproductive system, and thus, based on our animal model, we can conclude that it is a reasonable form of exercise to be recommended in clinical practice for the restoration or prevention of testicular function after oxidative stress. It would also be useful to test these results in a human population, of course without the administration of isoproterenol, in patients with

testicular oxidative stress due to smoking or varicocele.

In our second study, we investigated the intracellular mechanisms of defence against isoproterenol as a damaging oxidative stress agent after administration of paclitaxel. Paclitaxel is a commonly used agent in cardiology practice to coat intravascular devices to prevent restenosis. Its effect is highly dose-dependent, as demonstrated in previous studies.

In our study, we investigated the preservation of myocardial function impaired by isoproterenol in combination with paclitaxel. Our results showed that heme oxygenase-1 protein concentration, heme oxygenase activity, superoxide dismutase protein concentration and total glutathione were significantly decreased by isoproterenol treatment.

When paclitaxel was co-administered with isoproterenol, the concentrations of heme oxygenase-1, superoxide dismutase and total glutathione were not different from control levels. Myeloperoxidase activity, nuclear factor kappa B concentration and tumor necrosis factor-alpha protein concentration were significantly increased in the group receiving isoproterenol alone, while the levels of these molecules were restored when co-administered with paclitaxel.

Our study demonstrated that the administration of paclitaxel protected myocardial tissue from the damaging effects of isoproterenol in inducing oxidative stress, also demonstrating that oral paclitaxel suppresses oxidative and inflammatory processes, and that this suppression is achieved through stimulation of protective enzymes such as superoxide dismutase and heme oxygenase-1.

## **10. Tárgyszavak**

### **Magyar**

izoproterenol, testedzés, úszás, oxidatív stressz, gyulladásos citokinek, férfi megtermékenyítő képesség, HBA, paclitaxel, szívizom károsodás

### **Angol**

isoproterenol, exercise, swimming, oxidative stress, inflammatory cytokines, male fertility potential, HBA, paclitaxel, myocardial damage

## **11. A vizsgálatok finanszírozása**

GINOP\_PLUSZ-2.1.1-21-2022-00083 támogatásával valósult meg. A kutatást a Szegedi Tudományegyetem Interdiszciplináris Kutatásfejlesztési és Innovációs Kiválósági Központ (IKIKK) támogatta.

A témavezető a Diabfarmakológiai kutatócsoport tagja.

## 12. Köszönetnyilvánítás

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Táplálkozás-és Élelmiszertudományi Doktori Iskola egyéni felkészülési hallgatójaként készítettem.

Köszönet Prof. Dr. Szilvássy Zoltán, egyetemi tanár, Rektor Úrnak, hogy lehetővé tette a doktori iskolában való részvételt, valamint a Doktori Iskola részéről Prof. Dr. Juhász Bélának értékes tanácsaiért és iránymutatásaiért.

Köszönet témavezetőimnek, Dr. Szűcs Miklós Főorvos Úrnak és Dr. habil. Pósa Anikónak a munkámban való pótolhatatlan segítségnyújtásért.

Külön köszönet illeti meg a DE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet munkatársainak a szakmai és emberi segítségét, valamint közvetlen kollegáimnak odaadó szakmai és baráti támogatását.

Hálával tartozom a megjelent cikkek írásában való kulcsfontosságú közreműködéséért szerzőtásaimnak.

## 13. Táblázatjegyzék

**1.táblázat:** A paclitaxellel végzett vizsgálatok eredményei. MPO: mieloperoxidáz, HO-1: hem oxygenáz-1, SOD: szuperoxid dizmutáz, TNF- $\alpha$ : tumor nekrozis faktor-alfa, NF-kB: Nukleáris faktor kappa-B

## 14. Ábrajegyzék

- 1. ábra.** A paclitaxellel végzett kísérlet (II.) idővonala és protokolljai.
- 2. ábra.** A szérumszteronszint változása az izoproterenol-kezelés és az edzés hatására.
- 3. ábra.** A spermiumok minőségének és érettségének változása az izoproterenol-kezelés és a testedzés hatására.
- 4. ábra.** (a) Az izoproterenol-kezelés és a testmozgás/edzés hatása az ejakulátum interleukin-6 (IL-6) koncentrációjára. (b) Az izoproterenol-kezelés és a testmozgás/edzés hatása az ejakulátum tumor nekrosis faktor-alfa (TNF- $\alpha$ ) koncentrációjára.
- 5. ábra.** (a) Az izoproterenol-kezelés és a testmozgás/edzés hatása a herék interleukin-6 (IL-6) koncentrációjára. (b) Az izoproterenol-kezelés és az edzés hatása a herék tumor nekrosis faktor-alfa (TNF- $\alpha$ ) koncentrációjára.
- 6. ábra.** (a) Az izoproterenol-kezelés és a testedzés hatása a herék mieloperoxidáz (MPO) enzimaktivitására. (b) Az izoproterenol-kezelés és a testedzés hatása az ejakulátum mieloperoxidáz (MPO) enzimaktivitására.
- 7. ábra.** (a) Az izoproterenol-kezelés és a testedzés hatása a redukált/oxidált glutation (GSH) tartalom arányára a herékben. (b) Az izoproterenol-kezelés és a testmozgás-edzés hatása a redukált/oxidált glutation (GSH) tartalom arányára.
- 8. ábra.** A hemoxigenáz-1 fehérje koncentrációja CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívokban.
- 9. ábra.** Hemoxigenáz-1 aktivitás CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívokban.
- 10. ábra.** A szuperoxid-dizmutáz koncentrációja CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívokban.
- 11. ábra.** Teljes glutation szintek CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívokban.
- 12. ábra.** Mieloperoxidáz-aktivitás CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívokban.
- 13. ábra.** Nukleáris faktor- $\kappa$ B fehérje a CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívokban.
- 14. ábra.** Tumor nekrosis faktor- $\alpha$  fehérje koncentráció a CTRL-, ISO- és PAC-kezelt patkányszívokban.
- 15. ábra.** A paclitaxel kardioprotektív hatásának mechanizmusa.

## 15. Irodalomjegyzék

### a. Hivatkozott közlemények

1. Mancini, A.; Oliva, A.; Vergani, E.; Festa, R.; Silvestrini, A. The Dual Role of Oxidants in Male (In)fertility: Every ROSe Has a Thorn. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar; 24(5): 4994.
2. Matin, E., Ghaffari, S., Garjani, A., Roshanravan, N., Matin, S., Alamdari, NM., Naser Safaie, N. Oxidative stress and its association with ST resolution and clinical outcome measures in patients with ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) undergoing primary percutaneous coronary intervention *BMC Res Notes.* 2020; 13: 525.
3. Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 8416763.
4. Feng, J., Zheng, Y., Guo, M., Ares, I., Martínez, M., Lopez-Torres, B., Martínez-Larrañaga, MR., Wang, X, Anadón, A., Martínez, MA. Oxidative stress, the blood–brain barrier and neurodegenerative diseases: The critical beneficial role of dietary antioxidants *Acta Pharm Sin B.* 2023 Oct; 13(10): 3988–4024
5. Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S.Y., Alwasel, S.H., Nepovimova, E., Kuca, K., Valko, M. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol.* 2023; 97(10): 2499–2574.
6. Osváth, P, Szűcs, M, Börzsei, D, Szabó, R, Lesi, ZN, Turcsán, Z, Veszélka, M, Sebestyén, J, Juhász, B, Priksz, D, Varga, C, Pósa, A. Andrological Aspects of Exercise: Moderate Swimming Protects against Isoproterenol Induced Testis and Semen Abnormalities in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022 Feb 22;11(3):436.
7. Matusovits, D, Murlasits, Z, Kupai, K, Baráth, Z, Kang, HL, Osváth, P, Szűcs, M, Priksz, D, Juhász, B, Radák, Z, Várkonyi, T, Pavo, I, Pósa, A. Paclitaxel Protects against Isoproterenol-Induced Damage in Rat Myocardium: Its Heme-Oxygenase Mediated Role in Cardiovascular Research. *Antioxidants (Basel).* 2023 May 20;12(5):1129.
8. MacLeod, J. The role of oxygen in the metabolism and motility of human spermatozoa. *Am. J. Physiol.* 1943; 138:512–518.
9. Gerschman, R., Gilbert, D.L., Nye, S.W., Dwyer, P., Fenn, W.O. Oxygen poisoning and x-irradiation-A mechanism in common. *Science.* 1954; 119:623–626.
10. Commoner, B., Townsend, J., Pake, G.E. Free radicals in biological materials. *Nature.* 1954; 174:689–691.
11. Harman, D. Aging-A theory based on free-radical and radiation-chemistry. *J. Gerontol.* 1954; 11:298–300.

12. Lin, Y.-Y.; Lee, S.-D. Cardiovascular Benefits of Exercise Training in Postmenopausal Hypertension. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 2523.
13. WHO: Global status report on physical activity 2022. ISBN 978-92-4-005915-3
14. Meikle, A.W.; Reis, L.O.; Gibson, M.; Peterson, C.M.; Carrell, D.T.; Hammoud, A.O. Obesity and Male Infertility: A Practical Approach. *Semin. Reprod. Med.* 2012,30,486–495.
15. Agarwal, A.; Mulgund, A.; Hamada, A.; Chyatte, M.R. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2015, 13, 1–9.
16. Hammiche, F.; Laven, J.S.; Twigt, J.M.; Boellaard, W.P.; Steegers, E.A.; Steegers-Theunissen, R.P. Body mass index and central adiposity are associated with sperm quality in men of subfertile couples. *Hum. Reprod.* 2012, 27, 2365–2372.
17. Vaamonde, D.; Da Silva-Grigoletto, M.E.; García-Manso, J.M.; Barrera, N.; Vaamonde-Lemos, R. Physically active men show better semen parameters and hormone values than sedentary men. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2012, 112, 3267–3273.
18. Zhao, X.; Bian, Y.; Sun, Y.; Li, L.; Wang, L.; Zhao, C.; Shen, Y.; Song, Q.; Qu, Y.; Niu, S.; et al. Effects of moderate exercise over different phases on age-related physiological dysfunction in testes of SAMP8 mice. *Exp. Gerontol.* 2013, 48, 869–880.
19. Chigurupati, S.; Son, T.G.; Hyun, D.-H.; Lathia, J.D.; Mughal, M.R.; Savell, J.; Li, S.C.; Nagaraju, G.P.C.; Chan, S.L.; Arumugam, T.V.; et al. Lifelong running reduces oxidative stress and degenerative changes in the testes of mice. *J. Endocrinol.* 2008, 199, 333–341.
20. Szabó, R.; Börzsei, D.; Karácsonyi, Z.; Gesztelyi, R.; Nemes, K.; Berkó, A.M.; Veszelka, M.; Török, S.; Kupai, K.; Varga, C. et al. Postconditioning-like effect of exercise: New paradigm in experimental menopause. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 2019,316, H400–H407.
21. Börzsei, D.; Szabó, R.; Hoffmann, A.; Harmath, A.; Sebestyén, J.; Osman, J.; Juhász, B.; Priksz, D.; Varga, C.; Pósa, A. Multiple Applications of Different Exercise Modalities with Rodents. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2021, 2021, 1–11.
22. Manna, I.; Jana, K.; Samanta, P.K. Effect of intensive exercise-induced testicular gametogenic and steroidogenic disorders in mature male Wistar strain rats: A correlative approach to oxidative stress. *Acta Physiol. Scand.* 2003, 178, 33–40.
23. Azenabor A., Ekun A.O., Akinloye O. Impact of Inflammation on Male Reproductive Tract. *J Reprod Infertil* 2015 Jul-Sep;16(3):123-9.
24. Zhou, R.; Ma, P.; Xiong, A.; Xu, Y.; Wang, Y.; Xu, Q. Protective effects of low-dose rosuvastatin on isoproterenol-induced chronic heart failure in rats by regulation of DDAH-ADMA-NO pathway. *Cardiovasc. Ther.* 2017, 35, e12241.

25. Jimenez, S.K.; Jassal, D.S.; Kardami, E.; Cattini, P.A. A single bout of exercise promotes sustained left ventricular function improvement after isoproterenol-induced injury in mice. *J. Physiol. Sci.* 2011, 61, 331–336.
26. Díaz-Muñoz, M.; Alvarez-Pérez, M.A.; Yáñez, L.; Vidrio, S.; Martínez, L.; Rosas, G.; Yáñez, M.; Ramírez, S.; de Sánchez, V.C. Correlation between oxidative stress and alteration of intracellular calcium handling in isoproterenol-induced myocardial infarction. *Mol. Cell. Biochem.* 2006, 289, 125–136.
27. Varga, C.; Veszélka, M.; Kupai, K.; Börzsei, D.; Deim, Z.; Szabó, R.; Török, S.; Priksz, D.; Gesztelyi, R.; Juhász, B.; et al. The Effects of Exercise Training and High Triglyceride Diet in an Estrogen Depleted Rat Model: The Role of the Heme Oxygenase System and Inflammatory Processes in Cardiovascular Risk. *J. Sports Sci. Med.* 2018, 17, 580–588.
28. Cheng, Y.S.; Dai, D.Z.; Dai, Y. Testis dysfunction by isoproterenol is mediated by upregulating endothelin receptor A, leptin, and protein kinase C $\epsilon$  and is attenuated by an endothelin receptor antagonist CPU0213. *Reprod. Toxicol.* 2010, 29, 421–426.
29. Baumgartner, I.; Schindewolf, M. The paclitaxel story in cardiovascular medicine. *Eur. Heart J.* 2020, 41, 3740–3742.
30. Alfonso, F.; Rivero, F.; Granada, J.F. Safety of Paclitaxel-Coated Balloons in the Coronary Arteries. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2020, 75, 1029–1032.
31. Mills, J.L.; Conte, M.S.; Murad, M.H. Critical review and evidence implications of paclitaxel drug-eluting balloons and stents in peripheral artery disease. *J. Vasc. Surg.* 2019, 70, 3–7.
32. Thompson, C.A.; Huibregtse, B.; Poff, B.; Wilson, G.J. Time Dependent Vascular and Myocardial Responses of a Second Generation, Small Vessel, Paclitaxel-Eluting Stent Platform. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 2009, 73, 597–604.
33. Spargias, K.; Gyöngyösi, M.; Hemetsberger, R.; Posa, A.; Pavo, N.; Pavo, I.J.; Huber, K.; Petrasi, Z.; Petnehazy, O.; von Strandmann, R.P.; et al. Valvuloplasty with a Paclitaxel-Eluting Balloon Prevents Restenosis in an Experimental Animal Model of Aortic Stenosis. *J. Heart Valve Dis.* 2014, 23, 484–491.
34. Pósa, A.; Nyolczas, N.; Hemetsberger, R.; Pavo, N.; Petneházy, Ö.; Petrasi, Z.; Sangiorgi, G.; Gyongyosi, M. Optimization of Drug-Eluting Balloon Use for Safety and Efficacy: Evaluation of the 2nd Generation Paclitaxel-Eluting DIOR-Balloon in Porcine Coronary Arteries. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 2010, 76, 395–403.
35. Beckman, J.A.; White, C.J. Paclitaxel-Coated Balloons and Eluting Stents: Is There a Mortality Risk in Patients with Peripheral Artery Disease? *Circulation* 2019, 140, 1342–1351.
36. Rodríguez-Sinovas, A.; Abad, E.; Sánchez, J.A.; Sanz, C.F.; Inserte, J.; Ruiz-Meana, M.; Alburquerque-Béjar, J.J.; García-Dorado, D. Microtubule stabilization with paclitaxel does not protect against infarction in isolated rat hearts. *Exp. Physiol.* 2015, 100, 23–34.

37. Steiner, S.; Schmidt, A.; Zeller, T.; Tepe, G.; Thieme, M.; Maiwald, L.; Schröder, H.; Euringer, W.; Ulrich, M.; Brechtel, K.; et al. COMPARE: Prospective, Randomized, Non-Inferiority Trial of High- vs. Low-Dose Paclitaxel Drug-Coated Balloons for Femoropopliteal Interventions. *Eur. Heart J.* 2020, 41, 2541–2552.
38. Katsanos, K.; Spiliopoulos, S.; Kitrou, P.; Krokidis, M.; Karnabatidis, D. Risk of Death Following Application of Paclitaxel-Coated Balloons and Stents in the Femoropopliteal Artery of the Leg: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J. Am. Heart Assoc.* 2018, 7, e011245.
39. Zeller, T.; Micari, A.; Scheinert, D.; Baumgartner, I.; Bosiers, M.; Vermassen, F.E.; Banyai, M.; Shishehbor, M.H.; Wang, H.; Brodmann, M.; et al. The IN.PACT DEEP Clinical Drug-Coated Balloon Trial: 5-Year Outcomes. *JACC Cardiovasc. Interv.* 2020, 13, 431–443.
40. Freisinger, E.; Koeppel, J.; Gerss, J.; Goerlich, D.; Malyar, N.M.; Marschall, U.; Faldum, A.; Reinecke, H. Mortality after use of paclitaxel-based devices in peripheral arteries: A real-world safety analysis. *Eur. Heart J.* 2020, 41, 3732–3739.
41. Cao, H.-M.; Wang, Q.; You, H.-Y.; Li, J.; Yang, Z.-Y. Stabilizing Microtubules Decreases Myocardial Ischaemia-Reperfusion Injury. *J. Int. Med. Res.* 2011, 39, 1713–1719.
42. Cao, H.; Wang, Y.; Wang, Q.; Wang, R.; Guo, S.; Zhao, X.; Zhang, Y.; Tong, D.; Yang, Z. Taxol Prevents Myocardial Ischemia-reperfusion Injury by Inducing JNK-Mediated HO-1 Expression. *Pharm. Biol.* 2016, 54, 555–560.
43. Kumazawa, A.; Katoh, H.; Nonaka, D.; Watanabe, T.; Saotome, M.; Urushida, T.; Satoh, H.; Hayashi, H. Microtubule Disorganization Affects the Mitochondrial Permeability Transition Pore in Cardiac Myocytes. *Circ. J.* 2014, 78, 1206–1215.
44. Ren, S.; Huang, T.; Ou, D.; Feng, L.; Huang, S.; Zhou, C.; Ge, L. Inhibition of TNF- $\alpha$  and JNK Signaling Pathway Can Reduce Paclitaxel-Induced Apoptosis of Mouse Cardiomyocytes. *Appl. Bionics Biomech.* 2022, 2022, 8460121.
45. Kang, Y.; Cai, Y.; Pan, W. Rapamycin and Paclitaxel Affect Human Aortic Smooth Muscle Cells-Derived Foam Cells Viability and Proliferation. *Braz. J. Cardiovasc. Surg.* 2022, 37, 200–206.
46. Althunibat, O.Y.; Abduh, M.S.; Abukhalil, M.H.; Aladaileh, S.H.; Hanieh, H.; Mahmoud, A.M. Umbelliferone Prevents Isoproterenol-Induced Myocardial Injury by Upregulating Nrf2/HO-1 Signaling, and Attenuating Oxidative Stress, Inflammation, and Cell Death in Rats. *Biomed. Pharmacother.* 2022, 149, 112900.
47. Szucs, M.; Osvath, P.; Jakab, A.; Laczko, I. Adequacy of hyaluronan binding assay and a new fertility index derived from it for measuring of male fertility potential and the efficacy of supplement therapy. *Andrologia.* 2015 Jun;47(5):519-24.

48. Szucs, M.; Osvath, P.; Jakab, A.; Varga, D.; Varga, B.; Juhasz, B. Hyaluronan bound mature sperm count (HB-MaSC) is a more informative indicator of fertility than conventional sperm parameters: Correlations with Body Mass Index (BMI). *Reprod Biol.* 2019 Mar;19(1):38-44.
49. Kim, D.-W.; Kwon, J.-S.; Kim, Y.-G.; Kim, M.S.; Lee, G.-S.; Youn, T.-J.; Cho, M.-C. Novel Oral Formulation of Paclitaxel Inhibits Neointimal Hyperplasia in a Rat Carotid Artery Injury Model. *Circulation* 2004, 109, 1558–1563.
50. Kumar, T.R.; Doreswamy, K.; Shrilatha, B. Muralidhara Oxidative stress associated DNA damage in testis of mice: Induction of abnormal sperms and effects on fertility. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2002, 513, 103–111.
51. Karna, K.K.; Soni, K.K.; You, J.H.; Choi, N.Y.; Kim, H.K.; Kim, C.Y.; Lee, S.W.; Shin, Y.S.; Park, J.K. MOTILIPERM Ameliorates Immobilization Stress-Induced Testicular Dysfunction via Inhibition of Oxidative Stress and Modulation of the Nrf2/HO-1 Pathway in SD Rats. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 4750.
52. Turner, T.T.; Lysiak, J.J. Oxidative Stress: A Common Factor in Testicular Dysfunction. *J. Androl.* 2008, 29, 488–498.
53. Agarwal, A.; Makker, K.; Sharma, R. REVIEW ARTICLE: Clinical Relevance of Oxidative Stress in Male Factor Infertility: An Update. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2007, 59, 2–11.
54. Cocuzza, M.; Sikka, S.C.; Athayde, K.S.; Agarwal, A. Clinical relevance of oxidative stress and sperm chromatin damage in male infertility: An evidence-based analysis. *Int. Braz. J. Urol.* 2007, 33, 603–621.
55. Wagner, H.; Cheng, J.W.; Ko, E.Y. Role of reactive oxygen species in male infertility: An updated review of literature. *Arab J. Urol.* 2018, 16, 35–43.
56. de Barboza, G.D.; Guizzardi, S.; Moine, L.; de Talamoni, N.T. Oxidative stress, antioxidants, and intestinal calcium absorption. *World J. Gastroenterol.* 2017, 23, 2841–2853.
57. Ndrepepa, G. Myeloperoxidase—A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. *Clin. Chim. Acta* 2019, 493, 36–51.
58. Aratani, Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Arch. Biochem. Biophys.* 2018, 640, 47–52.
59. Samanta, P.K.; Manna, I.; Jana, K. Effect of L-ascorbic acid supplementation on testicular oxidative stress and endocrine disorders in mature male rats exposed to intensive swimming exercise. *Reprod. Med. Biol.* 2006, 5, 145–153.
60. Szabó, R.; Karácsonyi, Z.; Börzsei, D.; Juhasz, B.; Al-Awar, A.; Torok, S.; Berkó, A.M.; Takacs, I.; Kupai, K.; Varga, C.; et al. Role of Exercise-Induced Cardiac Remodeling in Ovariectomized Female Rats. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2018, 2018, 1–9.

61. Yi, X.; Tang, D.; Cao, S.; Li, T.; Gao, H.; Ma, T.; Yao, T.; Li, J.; Chang, B. Effect of Different Exercise Loads on Testicular Oxidative Stress and Reproductive Function in Obese Male Mice. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2020, 2020, 3071658.
62. Lin, T.; Wang, D.; Nagpal, M.L.; Chang, W. Recombinant murine tumor necrosis factor- $\alpha$  inhibits cholesterol side-chain cleavage cytochrome P450 and insulin-like growth factor-I gene expression in rat Leydig cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 1994, 101, 111–119.
63. Morgado, J.M.; Rama, L.; Silva, I.; de Jesus Inácio, M.; Henriques, A.; Laranjeira, P.; Pedreiro, S.; Rosado, F.; Alves, F.; Gleeson, M.; et al. Cytokine production by monocytes, neutrophils, and dendritic cells is hampered by long-term intensive training in elite swimmers. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2012, 112, 471–482.
64. Lettieri, G.; D'Agostino, G.; Mele, E.; Cardito, C.; Esposito, R.; Cimmino, A.; Giarra, A.; Trifuoggi, M.; Raimondo, S.; Notari, T.; et al. Discovery of the Involvement in DNA Oxidative Damage of Human Sperm Nuclear Basic Proteins of Healthy Young Men Living in Polluted Areas. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 4198.
65. Lettieri, G.; Marra, F.; Moriello, C.; Prisco, M.; Notari, T.; Trifuoggi, M.; Giarra, A.; Bosco, L.; Montano, L.; Piscopo, M. Molecular Alterations in Spermatozoa of a Family Case Living in the Land of Fires. A First Look at Possible Transgenerational Effects of Pollutants. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 6710.
66. Ryter, S.W.; Alam, J.; Choi, A.M.K. Heme Oxygenase-1/Carbon Monoxide: From Basic Science to Therapeutic Applications. *Physiol. Rev.* 2006, 86, 583–650.
67. Saji, K.; Fukumoto, Y.; Suzuki, J.; Fukui, S.; Nawata, J.; Shimokawa, H. Colchicine, a Microtubule Depolymerizing Agent, Inhibits Myocardial Apoptosis in Rats. *Tohoku J. Exp. Med.* 2007, 213, 139–148.
68. Eltobshy, S.A.; Hussein, A.M.; Elmileegy, A.A.; Askar, M.H.; Khater, Y.; Metias, E.F.; Helal, G.M. Effects of Heme Oxygenase-1 Upregulation on Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 2019, 23, 203–217.
69. Harvey, C.J.; Thimmulappa, R.K.; Singh, A.; Blake, D.J.; Ling, G.; Wakabayashi, N.; Fujii, J.; Myers, A.; Biswal, S. Nrf2-Regulated Glutathione Recycling Independent of Biosynthesis Is Critical for Cell Survival during Oxidative Stress. *Free Radic. Biol. Med.* 2009, 46, 443–453.
70. Scandalios, J.G. Oxidative stress: Molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2005, 38, 995–1014.
71. Chen, Q.M.; Maltagliati, A.J. Nrf2 at the Heart of Oxidative Stress and Cardiac Protection. *Physiol. Genom.* 2018, 50, 77–97.
72. Abukhalil, M.H.; Hussein, O.E.; Aladaileh, S.H.; Althunibat, O.Y.; Al-Amarat, W.; Saghir, S.A.; Alfwuaires, M.A.; Algefare, A.I.; Alanazi, K.M.; Al-Swailmi, F.K.; et al. Visnagin Prevents

Isoproterenol-Induced Myocardial Injury by Attenuating Oxidative Stress and Inflammation and Upregulating Nrf2 Signaling in Rats. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2021, 35, e22906.

73. Sandamali, J.A.N.; Hewawasam, R.P.; Jayatilaka, K.A.P.W.; Mudduwa, L.K.B. *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Ceylon cinnamon) Bark Extract Attenuates Doxorubicin Induced Cardiotoxicity in Wistar Rats. *Saudi Pharm. J.* 2021, 29, 820–832.

74. Heslop, C.L.; Frohlich, J.J.; Hill, J.S. Myeloperoxidase and C-Reactive Protein Have Combined Utility for Long-Term Prediction of Cardiovascular Mortality after Coronary Angiography. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010, 55, 1102–1109.

75. Sharma, L.K.; Lu, J.; Bai, Y. Mitochondrial Respiratory Complex I: Structure, Function, and Implication in Human Diseases. *Curr. Med. Chem.* 2009, 16, 1266–1277.

76. Issan, Y.; Kornowski, R.; Aravot, D.; Shainberg, A.; Laniado-Schwartzman, M.; Sodhi, K.; Abraham, N.G.; Hochhauser, E. Heme Oxygenase-1 Induction Improves Cardiac Function following Myocardial Ischemia by Reducing Oxidative Stress. *PLoS ONE* 2014, 9, e92246.

77. Lawrence, T. The Nuclear Factor NF-kappa B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2009, 1, a001651.

78. Gianni, L.; Kearns, C.M.; Giani, A.; Capri, G.; Viganó, L.; Lacatelli, A.; Bonadonna, G.; Egorin, M.J. Nonlinear pharmacokinetics and metabolism of paclitaxel and its pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships in humans. *J. Clin. Oncol.* 1995, 13, 180–190.

79. Radeleff, B.; Lopez-Benitez, R.; Stampfl, U.; Stampfl, S.; Sommer, C.; Thierjung, H.; Berger, I.; Kauffmann, G.; Richter, G.M. Paclitaxel-induced arterial wall toxicity and inflammation: Tissue uptake in various dose densities in a Minipig Model. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2010, 21, 1262–1270.

80. Bartekova, M.; Radosinska, J.; Jelemensky, M.; Dhalla, N.S. Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease. *Heart Fail. Rev.* 2018, 23, 733–758.

81. Szekely, Y.; Arbel, Y. A Review of Interleukin-1 in Heart Disease: Where Do We Stand Today? *Cardiol. Ther.* 2018, 7, 25–44

## **b. Saját közlemények**

**Osváth, P**, Szűcs, M, Börzsei, D, Szabó, R, Lesi, ZN, Turcsán, Z, Veszelka, M, Sebestyén, J, Juhász, B, Priksz, D, Varga, C, Pósa, A. Andrological Aspects of Exercise: Moderate Swimming Protects against Isoproterenol Induced Testis and Semen Abnormalities in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022 Feb 22;11(3):436.

Matusovits, D, Murlasits, Z, Kupai, K, Baráth, Z, Kang, HL, **Osváth, P**, Szűcs, M, Priksz, D, Juhász, B, Radák, Z, Várkonyi, T, Pavo, I, Pósa, A. Paclitaxel Protects against Isoproterenol-Induced Damage in Rat Myocardium: Its Heme-Oxygenase Mediated Role in Cardiovascular Research. *Antioxidants (Basel)*. 2023 May 20;12(5):1129.

## 16. Hivatalos publikációs lista



**DEBRECENI  
EGYETEM**

DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR  
H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400  
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/112/2024.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Osváth Péter

Doktori Iskola: Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola. Táplálkozástudományi Doktori Program

MTMT azonosító: 10088222

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Matusovits, D., Murlasits, Z., Kupai, K., Baráth, Z., Kang, H. L., Osváth, P., Szűcs, M., Priksz, D., Juhász, B., Radák, Z., Várkonyi, T., Pávó, I. J., Pósa, A.: Paclitaxel Protects against Isoproterenol-Induced Damage in Rat Myocardium: its Heme-Oxygenase Mediated Role in Cardiovascular Research. *Antioxidants*. 12 (5), 1-13, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox12051129>  
IF: 7 (2022)
2. Osváth, P., Szűcs, M., Börzsei, D., Szabó, R., Lesi, Z. N., Turcsán, Z., Veszélka, M., Sebestyén, J., Juhász, B., Priksz, D., Varga, C., Pósa, A.: Andrological Aspects of Exercise: moderate Swimming Protects against Isoproterenol Induced Testis and Semen Abnormalities in Rats. *Antioxidants*. 11 (3), 1-14, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox11030436>  
IF: 7

### További közlemények

3. Szűcs, M., Osváth, P., Jakab, A., Varga, D., Varga, B., Juhász, B.: Hyaluronan bound mature sperm count (HB-MaSC) is a more informative indicator of fertility than conventional sperm parameters: correlations with Body Mass Index (BMI). *Reproductive Biology*. 19 (1), 38-44, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.repbio.2019.02.002>  
IF: 1.862
4. Berozi, C., Molnárné Rázsó, K., Osváth, P., Boda, Z., Flaskó, T.: Acquired Hemophilia Caused by Ureteral Tumor. *Clin. Genitourin. Cancer*. 13 (6), e387-e389, 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clgc.2015.05.006>  
IF: 2.599





5. Szűcs, M., Osváth, P., Laczkó, I., Jakab, A.: Adequacy of hyaluronan binding assay and a new fertility index derived from it for measuring of male fertility potential and the efficacy of supplement therapy.  
*Andrologia*. 47 (5), 519-524, 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/and.12296>  
IF: 1.441
6. Berci, C., Osváth, P., Flaskó, T.: Large benign retroperitoneal tumour in pregnancy.  
*CUAJ-Can. Urol. Assoc. J.* 9 (7-8), 551-553, 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.5489/cuaj.2908>  
IF: 0.866
7. Berci, C., Osváth, P., Tóth, Á., Flaskó, T.: Retroperitoneális tumor terhességben.  
*Uroonkológia*. 9 (3), 68-70, 2012.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 20,768

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):  
14

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2024.03.25.

