

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**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

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

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében

a Egészségtudományok tudományágban

Írta: Dr. Osváth Péter, okleveles orvos

Készült a Debreceni Egyetem Táplálkozás- és Élelmiszertudományok doktori iskolája

Táplálkozástudományok programja keretében

Témavezetők:

Dr. Szűcs Miklós, PhD

Dr. Pósa Anikó, PhD

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Majoros László, PhD

Dr. Riesz Péter, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Gesztelyi Rudolf, PhD

tagok: Prof. Dr. Majoros László, PhD

Dr. Gergely Péter, PhD

Dr. Riesz Péter, PhD

Dr. Dér Péter, PhD

Az értekezés védésének időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet 'A' épület tanterme

2024. szeptember 06., 13.00

Tartalomjegyzék

Bevezetés	4
I. A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata	4
II. A paclitaxel és hatásai	5
Célkitűzések	6
I. vizsgálat	6
II. vizsgálat	6
Anyagok és módszerek	7
I. vizsgálat	7
II. vizsgálat	8
Eredmények	10
I. vizsgálat	10
II. vizsgálat	11
Megbeszélés	13
I. A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata	13
II. A paclitaxel és hatásai	15
Következtetések	16
I. A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata	16
II. A paclitaxel és hatásai	16
Összefoglalás	18
Tárgyszavak	20
A vizsgálatok finanszírozása	20
Köszönetnyilvánítás	21
Irodalomjegyzék	22
Hivatalos publikációs lista	25

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, mely oxidatív stressz kialakulásához vezethet. Az oxidatív stressz szövetekre gyakorolt káros hatása jól dokumentált és számos korábbi tanulmány központi témája [Mancini; Matin]. Az oxidatív stressz ellen a sejtek különböző védekező mechanizmusokat használnak a homeosztázisuk fenntartásához.

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

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

A második vizsgálatomban a paclitaxel védő hatását vizsgáltuk szívizomszövetben, a károsító ágensként használt izoproterenol injekciót követően [Matusovits].

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 emberi szervezetben a spermiumok különösen érzékenyek a környezetük változásaira. Jól dokumentált, hogy megnövekedett reaktív oxigén szabadgyök termelődés következményeként az oxidatív stressz állapota áll be, melynek a következményeként az események láncolata a lipidek, fehérjék és a dezoxiribonukleinsav károsodását okozzák. Mindezek szubfertilitáshoz, infertilitáshoz és/vagy a terhesség korai megszakadásához vezethetnek [Mancini]. A dolgozat *Irodalmi áttekintésében* végig vesszük az oxidatív stresszt okozó állapotokat, azok férfi megtermékenyítő képességre gyakorolt, ismert hatásait, illetve a testmozgás populációs és egyéni szinten jelentkező pozitív hatásait.

Jelen vizsgálatunkban az izoproterenolt, egy nem szelektív β -adrenerg receptor agonistát használtunk, hogy átmeneti iszkémián keresztül szöveti károsodást idézzünk elő [Szabó; Jimenez; Díaz-Muñoz]. Kutatócsoportunk korábban alátámasztotta, hogy a szövetkárosodás mögöttes mechanizmusai az

oxidáns/antioxidáns homeosztázis egyensúlyhiányának és a felgyorsult gyulladási folyamatoknak köszönhetőek [Díaz-Muñoz]. Bizonyítottuk továbbá azt is, hogy az izoproterenol által kiváltott károsodásokat sikeresen helyreállította a rendszeres, kontrollált testmozgás ösztrogénhormon-hiányos nőstény patkányokban [Szabó]. Az ösztrogén által közvetített folyamatok modulációja mellett az endogén tesztoszteronszint csökkenése, csökkent antioxidáns kapacitással és a gyulladási paraméterek emelkedett szintjével járhat együtt [Varga].

II. A paclitaxel és hatásai

Egy másik kísérletsorozatot (II.) szintén az oxidatív stressz témakörében végeztünk egy másik kiemelkedően fontos szerv, a szív viszonylatában [Matusovits]. 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 [Spargias; Steiner]. Bár a paclitaxel onkológiai és érrendszeri alkalmazásával kapcsolatban rengeteg kutatás létezik, a megfelelő adatok hiánya miatt nehéz következtetéseket levonni a szívizomban kifejtett sejtszintű hatásairól. Vizsgálatunkban a paclitaxel potenciális kardioprotektív tulajdonságainak elemzésére törekedtünk az izoproterenol által kiváltott szívkárosodásnak kitett patkányokban.

Célkitűzések

I. vizsgálat

Első vizsgálatunk 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 az előzőhöz 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 Tumor nekrosis faktor- α és az Nukleáris Faktor kappa B proinflammatorikus jelátviteli útvonal elnyomásával, illetve a védő molekulák, például a hem oxigenáz-1 és a szuperoxid-dizmutáz expressziójának serkentése révén.

Anyagok és módszerek

Mindkét vizsgálatunkban hím (Harlan-)Wistar patkányokat használtunk. Kísérleteink során a patkányok számát a minimumon tartottuk. A mintanagyságot erőforrás-egyenlet számítással határoztuk meg.

I. vizsgálat:

Vizsgálati csoportok felállítása

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

- (1) Abszolút kontrollok (CTRL);
- (2) Izoproterenol-kezelt (ISO);
- (3) 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 1,0 mg/kg injekcióval idéztük elő, 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 magas, de elegendő a szívizomkárosodás kiváltásához [Chigurupati]. A vizsgálat során minden erőfeszítést megtettünk annak érdekében, hogy az állatok számára a lehető legkisebbre csökkentsük a stresszfaktorokat.

A testedzés protokollja

A kísérleti állatokat heti 5 napon át, 3 héten keresztül egyénileg vízzel töltött medencében [Cheng]. 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 is. A teljes kísérleti időszak végén vér-, ejakulátum- és hereszövetmintákat gyűjtöttünk, melyeken az alábbi vizsgálatokat végeztük el: tesztoszteron szint meghatározás, hialuronsav kötődési vizsgálat (HBA[®]), TNF- α és IL-6 koncentráció meghatározás, redukált, az oxidált és teljes glutation szint (GSH, GSSG; GSH+GSSG) meghatározás, teljes glutation-tartalom (GSH+GSSG) mérése, mieloperoxidáz

(MPO) enzim aktivitás mérése, fehérje analízis.

Statisztikai elemzés: A statisztikai számításokat a GraphPad Prism for Windows szoftverrel végeztük. Minden adat a csoport átlagértékeként \pm standard eltérés 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 különbözónak tekintettük, és a pontos p-értékeket minden csoportra vonatkozóan az Eredmények fejezetben, szóráspont-diagramokon mutatom be.

II. Vizsgálat

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

- *Vizsgálati csoportok felállítása:* A Wistar patkányokat a kísérleti körülményekhez való hozzászoktatás után 4 csoportra osztottuk (CTRL, ISO, PAC, ISO+PAC). 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 (PAC) adtunk (10 mg/kg/nap) 5 napon át szájon keresztül [49], mind a kontroll patkányoknak (PAC), mind a korábban izoproterenollal kezelt patkányoknak (ISO + PAC).

Minden patkányt 24 órával az utolsó adag paclitaxel szájon át történő beadása után a szív bal kamrákat biológiai mérésekhez gyűjtöttük be. A bal kamrai mintákat folyékony nitrogénben porítottuk, és az elemzésekig -80°C -on tároltuk.

Majd az alábbi vizsgálatokat végeztük el a miokardiális szöveteken:

- *A szív HO-1, NF- κ B és TNF- α koncentrációjának meghatározása:* A porított kamrai mintát jéghideg foszfát pufferben homogenizáltunk, majd a centrifugálás után további ELISA és fehérjeelemzéseket végeztünk.

Az adatokat 450nm-es optikai denzitáson határoztuk meg egy mikrolemez olvasóval.

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

MPO: mieloperoxidáz, HO-1: hem oxygenáz-1, SOD: szuperoxid dizmutáz, TNF-α: tumor nekrozis faktor-alfa, NF-κB: Nukleáris faktor kappa-B

- *A szív teljes glutation (GSH+GSSG) szintjének mérése:* A pufferek elkészítését követően, a reagensek hozzáadása után DTNB képződést detektáltuk. A GSH-szinteket nM/fehérje milligramm mennyiségben fejeztük ki.

- *A szuperoxid-dizmutáz (SOD) vizsgálata a szívizomszövetben:* A szívizom SOD aktivitását egy specifikus kit (Abcam, ab65354) segítségével mértünk. Az eredményeket ng/mL-ben fejeztük ki.

- *A szívizom mieloperoxidáz aktivitásának meghatározása:* A porított kamrából a megfelelő eljárást követően az mieloperoxidáz aktivitást 490nm-en detektáltuk, és μU/fehérje mg-ban fejeztük ki.

- *A szív hem-oxygenáz aktivitásának meghatározása:* A hem oxygenáz-1 aktivitást az óránként termelődő bilirubin mennyiségeként (nmol-ban) határoztuk meg és milligramm fehérjére adtuk meg.

- *Statisztikai analízis:* A statisztikai elemzéseket ugyancsak a GraphPad Prism szoftverrel végeztük. A 0,05-nél kisebb valószínűségi értékeket (p) szignifikánsnak tekintettük, és csillaggal jelöltük a grafikonokon.

Eredmények

I. vizsgálat

- Változások a szérum tesztoszteron szintekben

A szérum tesztoszteronszintet a kísérleti időszak végén minden csoportban megmértük, a tesztoszteron szérumkoncentrációja az izoproterenol hatására jelentősen csökkent a kontroll csoporthoz képest. A kezelés előtti úzás (PRE) vagy a kezelés utáni úzás (POST) külön-külön szignifikáns növekedést idézett elő a tesztoszteron szintjében a nem edzett ISO csoporthoz képest. Sőt, a kezelés előtti és utáni úzás kombinációja (PRE+ISO+POST) kétszer magasabb androgénszintet eredményezett, mint akár a kezelés előtti, akár a kezelés utáni edzés.

- Hialuronsav-kötődési vizsgálat (HBA[®]) eredményei szignifikánsan csökkentek az izoproterenollal kezelt állatokban a kontroll csoporthoz képest, míg a 3 hetes úzástréning, akár az izoproterenol injekció előtt vagy után, akár kombináltan, szignifikánsan növelte a HBA-értékeket.

- Gyulladásos citokin vizsgálatok

- TNF- α és IL-6 koncentráció meghatározása az ejakulátumban

A várakozásoknak megfelelően a spermiumok TNF- α szintje szignifikánsan magasabb volt az izoproterenol beadása után a kontroll csoporthoz képest, és hasonló eredményeket kaptunk az IL-6 koncentrációjára vonatkozóan is. A három hetes rendszeres úzás azonban jelentősen mérsékelte a pro-inflammatorikus citokinek ezen emelkedéseit mind a PRE+ISO, mind a POST+ISO csoportokban. A kezelés előtti és utáni kombinált úzóedzés (PRE+ISO+POST) gyakorolta a legjelentősebb kedvező hatást a TNF- α 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.

- A herék TNF- α és IL-6 koncentrációjának mérése

Az izoproterenollal kezelt csoportban a herében az IL-6 koncentráció szignifikáns növekedését észleltük a kontroll állatokhoz képest. Az izoproterenol beadása előtt vagy után végzett úzás 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 úzásból álló kombinált edzés bizonyult a leghatékonyabbnak az izoproterenol által kiváltott emelkedett IL-6 koncentráció csökkentése szempontjából.

Az IL-6 koncentráció változásához hasonlóan az izoproterenol kezelés szignifikánsan megnövelte a TNF- α szintjét a herében a kontroll csoporthoz képest. Az úszás edzések ismét hatásosnak bizonyultak a TNF- α szintek csökkentése szempontjából a PRE+ISO és POST+ISO, és különösen a PRE+ISO+POST csoportokban.

- A mieloperoxidáz aktivitás meghatározása

Az ejakulátumban és a herében a gyulladással kapcsolatos citokinszintekben észlelt változásokhoz hasonlóan a MPO aktivitás is szignifikánsan magasabb volt az izoproterenollal kezelt állatokban, mint a kontroll patkányokban. Ismét kiderült, hogy a herékkel és az ejakulátummal kapcsolatos gyulladással kapcsolatos 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. Továbbá a kezelés előtti és utáni úszás (PRE+ISO+POST) együttesen váltotta ki a MPO aktivitás legnagyobb mértékű csökkenését a csak izoproterenollal kezelt csoporthoz képest.

- 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; az izoproterenol kezelés előtti vagy utáni rendszeres úszás azonban jelentősen javította a herek 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-csoportokhoz képest.

II. Vizsgálat eredményei

A második, szívizomszövetet vizsgáló kísérlet sorozatunk eredményei a következőképpen alakultak:

- Hem-oxigenáz-1(HO-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 patkányszívekben. Amikor a paclitaxelt izoproterenollal együtt adtuk, a HO-1 koncentrációja nem különbözött a kontrollszinttől.

- A hem-oxigenáz (HO) 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.

- Szuperoxid-dizmutáz (SOD)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.

- Teljes glutation tartalom

Az összes glutation szintje csökkent az izoproterenol adagolásával, de kontroll 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 kontrollhoz képest különbség lett volna.

- 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.

- NF- κ B fehérje expresszió

Az izoproterenol jelentősen megnövelte a NF- κ B koncentrációját, míg a paclitaxel önmagában nem volt hatással az expressziójára. Amikor a paclitaxelt izoproterenollal együtt adtuk, az NF- κ B szintje helyreállt, és nem volt szignifikáns különbség a kontrollhoz képest.

- 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.

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 miliójében az oxidatív stressz DNS-károsodással és rendellenes hímivarsejt termeléssel jár, ami a csökkent férfi termékenységgel növekvő gyakoriságát magyarázza [Kumar; Karna; Turner]. Sőt, az oxidatív stresszfaktorok a vizsgálatok szerint ok-okozati szerepet játszanak a spermiumok rendellenességeinek és a herék rendellenes működésének kialakulásában [Agarwal; Cocuzza].

A vizsgálatokból látható, hogy az izoproterenol által kiváltott oxidatív stressz és az ebből következően a herék csökkent vérellátása, a tesztoszteron szekréció csökkenésével együtt, csökkenti a spermiumok hialuronsav-kötődését ahogyan azt jelen kísérletünkben kimutattuk. Emellett patkánymodellünkben mind a herében, mind az izoproterenollal kezelt állatok ejakulátumában szignifikánsan alacsonyabb glutation szintet találtunk, ami arra utal, hogy az izoproterenol által kiváltott herekárosodás tönkretette a szövet antioxidáns védelmét. A here csökkent glutation szintje szerepet játszhat a tesztoszteron bioszintézisének károsodásában is az izoproterenol kezelést követően.

Kísérleteinkkel azt is kimutattuk, hogy az izoproterenol indukált oxidatív stressz a MPO/TNF- α /IL-6 'up-regulációján' keresztül gyulladást generál, ami szintén hozzájárulhat a tesztoszteron-koncentráció csökkenéséhez és az érett spermiumok csökkent arányához, ami szubfertilításhoz vagy infertilitáshoz vezethet. Vizsgálatunkban megnövekedett mieloperoxidáz 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.

A jelen vizsgálatunkban a kezelés előtti és/vagy utáni mérsékelt úszás hatását vizsgáltuk az izoproterenol által kiváltott gyulladási válasz és a GSH közvetített antioxidáns rendszer csökkent kapacitása elleni védelem érdekében.

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 heregyulladásal szemben patkánymodellben.

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. Konkrétan 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 mieloperoxidáz 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- α szintjének csökkenésével járt együtt, ami tovább erősíti, hogy a rendszeres fizikai aktivitás csökkentheti a heregyulladást. Ezek a megfigyelések összhangban vannak a glutation aktivitás, a szérumszintje és az ejakulátum HBA-analízisének eredményeivel.

Ezen korábbi eredmények és a jelen vizsgálat eredményei alapján úgy véljük, hogy a mérsékelt intenzitású úszás az oxidatív stressz csökkentésével gátolhatja a pro-inflammatorikus citokinek, ami az antiinflammatorikus citokinek fokozásával elősegítheti a tesztoszteron szintézist.

Vizsgálatunkban izoproterenol injekciót alkalmaztunk, melynek következtében a hím patkányok hereszövegei magas oxidatív stressz és magas gyulladási válasz állapotában vannak. Ezt támasztja alá az MPO, az IL-6 és a TNF- α emelkedett szintje, valamint a GSH csökkent szintje. A hereszövet molekuláris és biokémiai változásai mellett az ejakulátumban is mélyreható változások jelennek meg.

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

A jelen tanulmány azt sugallja, hogy az antioxidáns védelmi rendszer megzavarása és az emelkedett gyulladás káros hatással van a férfi reprodukív 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

Az izoproterenollal és paclitaxellel végzett kísérletsorozatunk fő eredménye, hogy a paclitaxel védte a szívmot 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- κ B, TNF- α 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.

Vizsgálatunk alapján arra következtethetünk, hogy a jelenlegi vizsgálatban alkalmazott orális adagolással megelőzhető a helyi toxicitás [Kim]. A jelenlegi vizsgálat korlátai közé tartozik 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 szívmotában [Althunibat; Chen].

Következtetések

I. A férfi megtermékenyítő képesség és a testmozgás kapcsolata

Első vizsgálatunkat összefoglalva, 1mg/kg izoproterenol injekció csökkentette az antioxidáns tulajdonságú GSH termelését és 'up-regulálta' az MPO-IL6-TNF- α gyulladási 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 gyulladást 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 gyulladási 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 testtömeg index nagyobb megtermékenyítő képességet jelez, mivel a rendszeres testmozgás a testtömeg kontroll egyik fontos sarokköve.

II. A paclitaxel és hatásai

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 elnyomja a TNF- α , MPO és NF- κ B termelését, amelyek részt vesznek az oxidatív és gyulladási 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- α -t, és ezáltal az NF- κ B jelátvitelt a szívizomban. [Kumazawa; Issan; Lawrence] 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 gyulladási állapotaiban [Bartekova, Székely], konkrétan az IL-1 blokkolása csökkentette a doxorubicin által kiváltott károsodást a szívizomban, ami

potenciális célpontra utalhat az izoproterenol által károsított modellben is [Székely]. 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.

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. A reproduktív rendszerben az oxidatív stressz a sejtmembránok többszörösen telítetlen zsírsav komponenseit érinti leginkább, illetve gyulladós folyamatokat indukál, ezen folyamatok a pro-inflammatorikus citokinek szintjével jól jellemezhetőek. 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 gyulladós paramétereire, így a felállított állatmodellünk alapján következtethetünk arra, hogy a klinikai gyakorlatban is megalapozottan ajánlható mozgásforma az oxidatív stresszt szenvedett herefunkció visszaállítására, illetve megelőzésére. Hasznos lenne ezen eredmények emberi populációban való vizsgálata is, természetesen izoproterenol adása nélkül, olyan betegeknél, akiknél dohányzás vagy varicocele miatt herék oxidatív stressznek

vannak kitéve.

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 gyulladásos folyamatokat elnyomja és ezen szupresszió a védő enzimek, mint a szuperoxid dizmutáz és hem-oxigenáz-1 stimulálásán keresztül valósul meg.

Tárgyszavak

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

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.

Dr. Pósa Anikó társtémavezető a Diabfarmakológiai kutatócsoport tagja.

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. Pósa Anikónak a munkámban való pótolhatatlan segítségnyújtásért.

Külön köszönet illeti meg a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar 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.

Irodalomjegyzék

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.

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.

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.

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.

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.

Szabó, R.; Börzsei, D.; Karácsonyi, Z.; Gesztelyi, R.; Nemes, K.; Berkó, A.M.; Veszélka, 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.

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.

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.

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.

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.

Cheng, Y.S.; Dai, D.Z.; Dai, Y. Testis dysfunction by isoproterenol is mediated by upregulating endothelin receptor A, leptin, and protein kinase C ϵ and is attenuated by an endothelin receptor antagonist CPU0213. *Reprod. Toxicol.* 2010, 29, 421–426.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

Turner, T.T.; Lysiak, J.J. Oxidative Stress: A Common Factor in Testicular Dysfunction. *J. Androl.* 2008, 29, 488–498.

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.

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.

Chen, Q.M.; Maltagliati, A.J. Nrf2 at the Heart of Oxidative Stress and Cardiac Protection. *Physiol. Genom.* 2018, 50, 77–97.

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.

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

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



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., 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. 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. Berczi, 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.12298>

IF: 1.441

6. Berczi, 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. Berczi, 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.

