

**Állatorvostudományi Egyetem**  
**Szülészeti Tanszék és Haszonállat-Gyógyászati Klinika**



Pentoxifillin hatása fagyasztott kossperma motilitására

*Effect of pentoxifylline on frozen ram sperm motility*

Készítette:  
Gombár Zsaklin

Témavezetők:  
dr. Csepreghy Anna, tanszéki állatorvos  
Dr. Cseh Sándor, egyetemi tanár

Szülészeti Tanszék és Haszonállat-Gyógyászati Klinika

2022

## **Absztrakt**

Magyarországon a juhtartás múltja, valamint a kedvező hazai környezeti adottságok miatt, rendkívül népszerű az itthoni állattenyésztési ágazatok között. Az asszisztált reprodukciós eljárások fejlődése, továbbá a spermiumok sikeres fagyasztva tárolása, lehetővé tette a fagyasztott sperma használatát a haszonállatok mesterséges megtermékenyítése során. Számos állatfajban alkalmazzák évtizedek óta, azonban a juhtenyésztésben eddig kiegészítő szerepe van, ennek egyik oka lehet, hogy a fagyasztási eljárás során a kossperma motilitása, ebből adódóan a fertilizációs képessége is csökken. Mivel a fagyasztási eljárás utáni felengedési, olvadási folyamat hatására a hímivarsejtek mozgásképessége csökken, így a spermiumokat minél közelebb kell juttatni a fertilizáció helyéhez. Az anyajuhok nyakcsatornájának anatómiai tulajdonságaiból adódóan a transzcervikális termékenyítést nem tudják alkalmazni, ebből kifolyólag a laparoszkóppal történő inszeminálási technikát veszik igénybe.

Az általunk végzett kísérletben *in vitro* vizsgáltuk a pentoxifillin hatását fagyasztott kossperma motilitására CASA segítségével, az eredmények statisztikai elemzését pedig az R programmal végeztük. A pentoxifillin, foszfodiészteráz gátló hatásából adódóan képes megemelni a spermiumokban a ciklikus adenzin-monofoszfát koncentrációját, amely a motilitás növeléséhez vezet, emellett az akroszóma reakció elősegítéséhez, továbbá a hímivarsejtek zona pellucidán való áthaladását is elősegíti. A kísérletünkben a 0. percben natív mintán, ezenkívül a 30. és a 60. percben 1 mg/ml és 2 mg/ml koncentrációjú pentoxifillinnel kezelt kossperma mintákon végeztük el a spermiumok motilitásának vizsgálatát. Eredményeink alapján a pentoxifillin a használt koncentrációkban a fertilizáció szempontjából kritikus, progresszív lassú motilitást az általunk vizsgált időintervallumban fenn tudja tartani.

## **Abstract**

Due to sheep the history of sheep husbandry over and above favorable environmental conditions, it is extremely popular among hungarian animal husbandry sectors. The development of assisted reproduction procedures, furthermore the successful storage of frozen sperm, made it possible to use frozen sperm during the artificial insemination of farm animals. It has been used in many species of animals for decades, however it has an additional role in sheep breeding so far, one of the reasons for this may be, that during the freezing process the motility of the ram's sperm and consequently its fertilization ability, decreases. Because of the freezee-thaw process the motility of the sperm is decreases, thus the spermatozoa must be

brought as close as possible to the place of fertilization. Due to the anatomical features of the cervical canal of ewes, transcervical insemination cannot be used, therefore they use the laparoscopic insemination technique.

In the experiment we conducted, we investigated the effect of pentoxifylline on the motility of frozen ram sperm in vitro using CASA and the statistical analysis of the results was done using the R program. Pentoxifylline due to its phosphodiesterase inhibitory effect, is able to increase the concentration of cyclic adenosine monophosphate in sperm, leads to increased motility, in addition enhances the acrosome reaction, it also promotes the passage of sperm through the zona pellucida. In our experiment, the sperm motility was tested on ram sperm, samples were analyzed on the native sample at minute 0, besides that at the 30th and 60th minutes, it was performed on samples treated with 1 mg/ml and 2 mg/ml pentoxifylline. Based on our results, pentoxifylline, in the concentrations that we used it can maintain the progressive slow motility in the time interval we were examined, which is critical for fertilization.

## Tartalom

1	Bevezetés .....	4
2	Szakirodalmi áttekintés .....	4
2.1	Juhtenyésztés Magyarországon .....	4
2.2	Asszisztált reprodukciós technikák jelentősége .....	7
2.3	Juhok mesterséges termékenyítése .....	9
2.4	A spermiumok motilitása és annak értékelése, a CASA rendszer.....	11
2.5	Pentoxifillin .....	13
3	Anyag és módszer .....	16
4	Eredmények .....	18
5	Megbeszélés/következtetések .....	20
6	Összefoglalás .....	24
7	Irodalomjegyzék .....	26
8	Nyilatkozatok.....	31

## Rövidítések jegyzéke

ART	Asszisztált reprodukciós technika
ATP	Adenozin-trifoszfát
cAMP	Ciklikus-adenozin-monofoszfát
CASA	Computer Assisted Sperm Analysis
MT	Mesterséges termékenyítés
ROS	Reaktív oxigén gyökök
SID	Shot-in-the-dark
VCL	Curvilinear velocity
VSL	Straight line velocity
LIN	linearity
ml	milliliter
mg	milligramm

# 1 Bevezetés

Az állattenyésztésben, így a hazai juhtartásban is egyre népszerűbb a fagyasztott sperma használata. Alkalmazásával a nagy tenyészértékkel rendelkező kosoktól, nagyszámú utód nyerhető. Sajnálatos módon a fagyasztási eljárás utáni felengedési, olvadási folyamat csökkenti a spermiumok motilitását, életképességét és megtermékenyítési potenciálját. Ezáltal nem olyan hatékony az alkalmazása, mint friss sperma igénybevétele esetén.

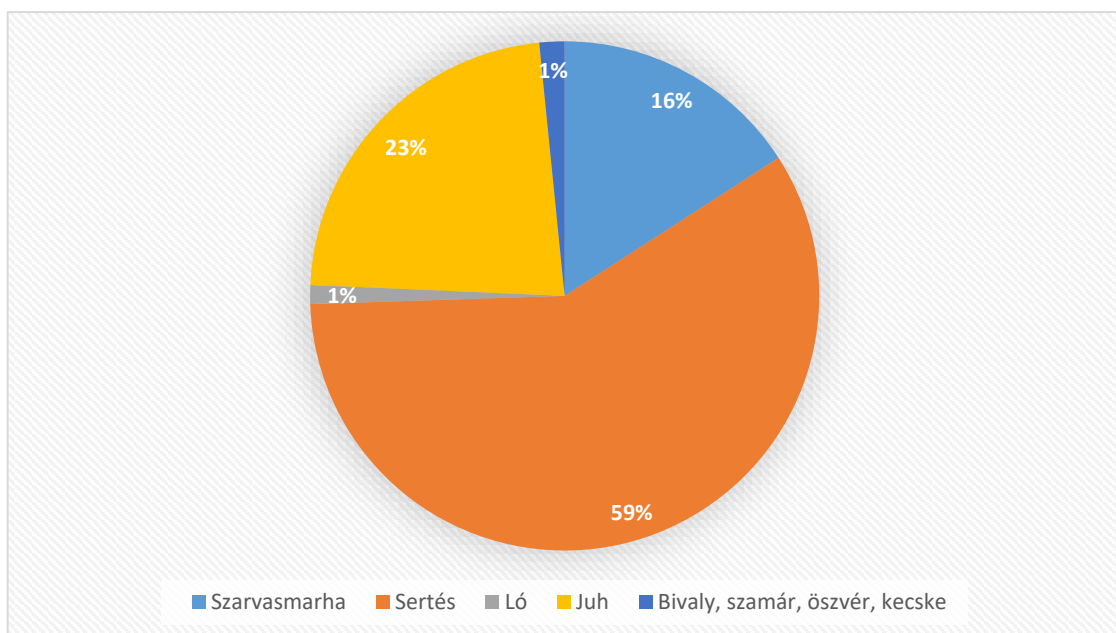
A metil-xantin szárazékok, foszfodiészteráz gátló hatásuk miatt képesek megemelni a hímivarsejtekben a ciklikus adenzin-monofoszfát koncentrációját, ennek köszönhetően pozitív hatással bírnak a spermiumok motilitására nézve. Ilyen metil-xantin származék a pentoxifillin, amely nem specifikus gátlója a foszfodiészteráz ezimnek. Ebből kifolyólag alkalmas lehet háziállataink fagyasztott spermás mesterséges megtermékenyítésében, a motilitás növelésére.

Kísérletünkben kosspermán vizsgáltuk a pentoxifillin hatását, annak megállapítására, hogy valóban képes-e növelni a motilitást.

## 2 Szakirodalmi áttekintés

### 2.1 Juhtenyésztés Magyarországon

A juhok által termelt állattermékek, mint a juhhús, valamint a másodlagos termékek, nevezetesen a tej és gyapjú miatt, a juhtartás elterjedt Magyarországon. A hazai juhállomány



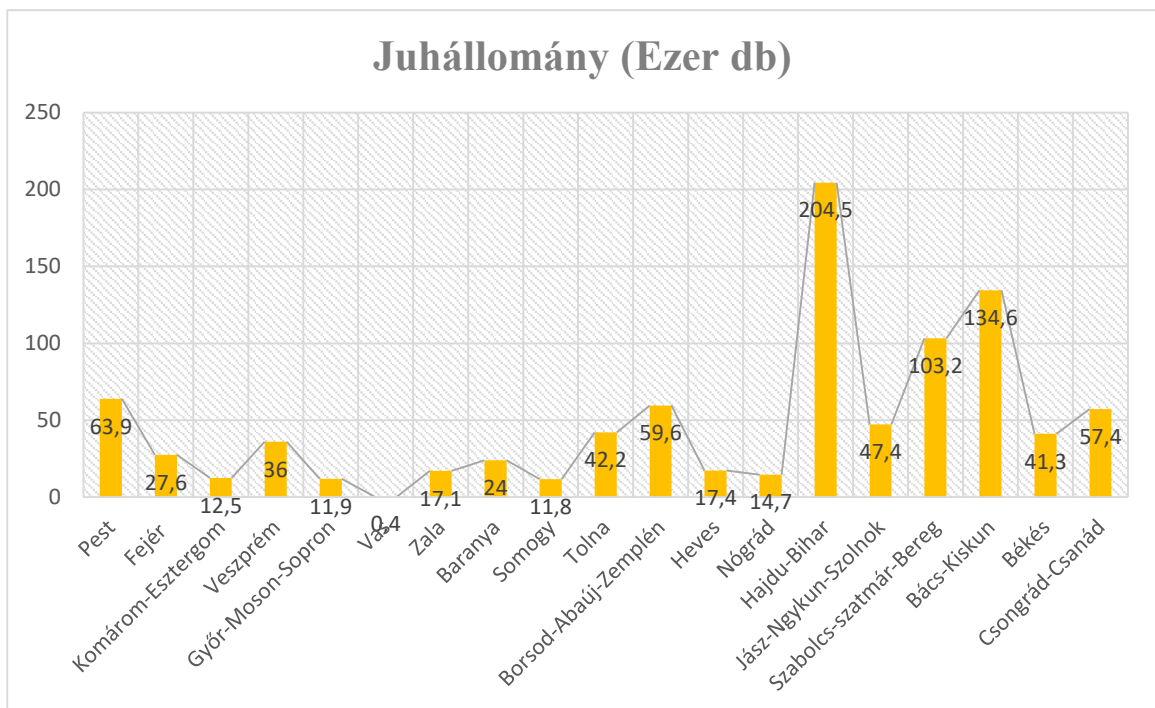
1. ábra: Magyarország állatállományának megoszlása 2010-2019 között

száma az utóbbi tíz évben megközelítőleg 1,1 millió körül mozog (ebből anyajuh: 800 ezer), így az ország állatállományának kb. 20-23%-át teszi ki [1].(1. ábra)

A házasított juh (*Ovis aries*) a párosujjú patások rendjébe tartozó, valamint a juh alakúak (*oviae*) családjába sorolt faj, amely az egyik legelterjedtebb és legrégebbi házasított fajunk. Körülbelül 10-11 ezer éve történt meg a domesztikációja a termékeny félhold területén, Délnyugat-Ázsiában [2]. A házi juh ősei között valószínűleg az urial vagy más néven pusztai juh (*Ovis orientalis*) és a muflon (*Ovis musimon*) vadjuh faj szerepelt [3], amelyeket elsősorban a húruk miatt tenyésztettek, csak később (4000-5000 évvel ezelőtt) vált elterjedté a gyapjú, illetve a juhtej termelés [4]. A házasítás eredményeképp nem csak az állatok viselkedésében, hanem a bizonyos termelési célokra történő szelekció miatt, a juhok genomjában is következett be változás, amely a fajok morfológiai tulajdonságaiban is megjelent. A vadjuhokra jellemző szarv szinte teljesen eltűnt, valamint a szőrpigmentáció is megváltozott. Az endogén retrovírusokkal végzett kísérletek bebizonyították azt, hogy a kívánt másodlagos tulajdonságokkal rendelkező házi juhok kiválasztása a különböző termelési célokra először Délnyugat-Ázsiában kezdődött meg, majd innen terjedt át Európába és Afrikába, valamint Ázsia többi részére [5]. A domesztikáció ezen típusa több hullámban ment végbe oly módon, hogy az ősi fajták tulajdonságai, mint például a sötétebb és durvább szőr, valamint a szarv, primitívnek számítottak a jobb termelési tulajdonságot mutató házasított populációkhoz képest. Ennek következtében kiszorították ezen fajokat a termelésből.

Magyarországon a juhtenyésztés már a honfoglalás idejében is megfigyelhető volt. Többnyire olyan legelőkön tartották őket, ahol például a szarvasmarhatartás nem volt gazdaságos. Fénykora a XVIII. század vége és a XIX. század közepére tehető [6]. Ekkor főképp a jó minőségű gyapjú előállítás volt a cél, így a finomgyapjas merinó fajta tartása volt elterjedt. Ez idő tájt átlagosan öt millió juhot tartottak számon Magyarországon. A gyapjú iránti kereslet visszaesése a hazai juhállomány csökkenését vonta magával. Megváltozott a hasznosítási irány, az 1970-es évekre főként a hústermelés, a vágójuh előállítás lett a cél. Ebben az időben mintegy 20 ezer tonna volt a hazai juhállomány hústermelése, amely nagy részét exportálták [7].

Az elmúlt években a belföldi juhhústermelés növekvő tendenciát mutat. 2019-ben például körülbelül 1500 tonna húst állítottak elő a gazdaságok, amelyből 400 tonna került kivitelre. Ekkor a hazai juhállományban is jóval magasabb volt az egyedek száma (körülbelül egymillió darab), az idei fél éves adatok a 2019-es évhez képest körülbelül 6%-os állománycsökkenést mutatnak [8]. Az idei fél éves adatok szerint a Nyugat-dunántúli régióban tartják a legkevesebb



2. ábra: A juhállomány megoszlása a 2022-es első félévi adatok alapján

juhot, megközelítőleg 29000 darabot, amelynek közel 70%-a anyajuh (1. táblázat). A régióba tartozó Vas megyében, fordul elő országosan a legkisebb juhállomány létszám, mintegy 400 juh található itt (2.ábra). A régiók közül az Észak-alföldi és Dél-alföldi régióban (elsősorban e területek természeti adottságai miatt) található a legnagyobb számú juhállomány.

1. táblázat: A juhállomány megoszlása Magyarországon régióként a 2022-es első félévi adatok szerint (forrás: Központi Statisztikai Hivatal)

	Közép-Magyarország		Dunántúl			Alföld és észak		
	Pest	Budapest	Közép-Dunántúl	Nyugat-Dunántúl	Dél-Dunántúl	Észak-Magyarország	Észak-Alföld	Dél-Alföld
<b>Juhállomány (ezer db)</b>	63,9	0,9	76,1	29,4	77,9	91,7	355,1	233,3
<b>Ebből anyajuh (ezer db)</b>	50,9	0,5	55,5	17,5	55,3	73,6	285,8	176,0



Általánosságban elmondható, hogy hasznosítástól függetlenül, a juhászat bevételének döntő hányada jelenleg a vágóbárány eladásból származik [9]. Emiatt nagyon fontos a szaporaság és az értékesített báránytömeg növelése.

A juhok, a többi kiskérődzőhöz hasonlóan nagyon jól tűrik az éghajlati változásokat és jobban tudják hasznosítani a rostosabb, rosszabb minőségű takarmányt, mint a szarvasmarhák [10]. Valamint meg kell említeni azt, hogy míg az intenzíven tartott baromfi, illetve sertés állományok tenyésztésével magasabb hústermelés érhető el, addig az elsősorban legelőre alapozott juhtartással, jóval kevesebb. Mindazonáltal fontos megjegyeznünk azt, hogy a kiskérődzőket többnyire olyan területen legeltetik, amelyek a szántóföldi növények termesztésére alkalmatlanok, szemben az intenzív tartásban használt tömegtakarmányokban előforduló gabonafélékkel, hüvelyesekkel, melyek akár közvetlenül is alkalmasak emberi fogyasztásra.

A klímaváltozás nagyban érinti az állattenyésztést és növénytermesztést. A felmelegedés hatására nem csak az állatokat érő hőstressz válik fontossá, hanem a megnövekedett vízigény is. Az elsivatagosodás érinteni fogja juhágazatot, negatív tendencia, általános termelésesökkenés valószínű. Hazánk adottságainak kihasználásával (megújuló, átfolyó vízkészletek) az öntözhető területek, növelhetők és lehetőséget biztosítanak a juhtenyésztés fejlesztésére, ezen felül a juhhús és másodlagos termékek exportjának föllendüléséhez.

A tudomány fejlődésével és ismereteink bővítésével a juh ágazatból származó hústermelést növelni tudjuk, ilyen módszer lehet az asszisztált reprodukciós technikák (ART) alkalmazása.

## **2.2 Asszisztált reprodukciós technikák jelentősége**

A reprodukciós hatékonyság az egyik legfontosabb tulajdonság a termelékenység növelésére. Olyan értékes tenyészállatok, amelyek hagyományos tenyésztési technikákkal nem tudtak utódot létrehozni az asszisztált reprodukciós eljárásoknak köszönhetően magas színvonalú utódokat produkálhatnak. Számos ilyesfajta technika létezik, ide tartozik többek között a mesterséges termékenyítés, embrióátültetés, a spermiumok és az embriók fagyasztása, illetve az in vitro fertilizáció.

Az egyik legrégebbi és leggyakrabban alkalmazott módszer az állattenyésztésben a mesterséges termékenyítés (MT). Az első ilyen beavatkozást 1784-ben hajtotta végre Spallanzani egy kutyán [11]. A spermiumok sikeres fagyasztva tárolása, valamint a szuperovuláció és az ösztroz szinkronizáció alkalmazása az állattenyésztésben jelentős

fejlődéséhez vezettek és forradalmasították az asszisztált reprodukciós eljárásokat, azon belül is a mesterséges termékenyítést. Használatához kevesebb apaállatra van szükség, így gazdaságosabb, valamint maximalizálja az optimális genetikai információ átvitelét [12]. Ezen felül javítja a genetikai szelekció sebességét, hatékonyságát és a tenyészállatok mentesíthetők a természetes pároztatás útján terjedő betegségektől.

További módszer az in vitro fertilizáció (IVF), amely során a megtermékenyítés az anya testén kívül, laboratóriumi körülmények között történik, ez a humán gyógyászatból ismert „lombikbébi-eljárás”. E technika használatával magas genetikai értékű embriók előállítása lehetséges, segítségével pedig nem csak az élelmiszertermelő állatok termékenysége növelhető, hanem – embrió transzferrel és szuperovulációval kombinálva – a veszélyeztetett állatok megőrzése céljából is használható [13].

A juhtenyésztésben mindkét módszer alkalmazása előtt célszerű az állatok ciklusát szinkronizálni. Mivel a juh szezonálisan ivarzó állat [14], így ivarzása a fotoperiódustól, tápanyagok hozzáférhetőségétől, laktációs időszak hosszától és egyéb környezeti tényezőktől függ. Ezáltal a fialás utáni hosszú anösztrusz miatt egy anyajuh csupán egyszer ellik egy évben, így kevesebb bérany nyerhető, emiatt az állatok ciklusát szinkronizálják. A kontrollált reprodukciós technikák fejlődése az 1950-es évekre tehető, amikor felismerték a progeszteron szerepét az ovuláció kiváltásában és kifejlesztették a progeszteron analógokat [15]. Ezen hormonok a ciklus luteális fázisában fejtik ki a hatásukat, szimulálva az ovuláció után a sárgatestben termelődő természetes progeszteront, így lehetővé teszik az ösztrusz, illetve az ovuláció szabályozását [16]. További módszer a luteolízis kiváltása prosztaglandinnal, illetve analógjaival. Azonban ehhez aktív sárgatestnek kell jelen lennie, következésképpen az anösztruszban vagy a korai illetve késő luteális vagy folliculáris fázisban lévő állatok nem ragálnak a prosztaglandin analóggal végrehajtott kezelésre.

Az ivarzás szinkronizálása lehetővé teszi tehát a fialás és béranynevelés ellenőrzését, továbbá a munkaerő hatékonyabb felhasználását. Emellett mesterséges termékenyítés és embrió transzfer alkalmazása is lehetséges az ivarzás szinkronizálás igénybevételével.

### 2.3 Juhok mesterséges termékenyítése

Hazai viszonylatban a juhtenyésztésben, az asszisztált reprodukciós technikák közül az *in vitro* fertilizációt ritkábban használják, mint a mesterséges termékenyítést, annak jóval drágább anyagi vonzata miatt. A juhok mesterséges termékenyítését végezhetjük friss vagy fagyasztott spermával. A mesterséges termékenyítéshez általában hígított spermát használnak, mivel így a spermiumok életképessége nem szenved kárt, valamint számos anyajuh számára tudnak termékenyítő adagot előállítani [17]. A spermahígítók olyan anyagokat tartalmaznak, amelyek megvédik a spermiumokat a pH változástól, fenntartják az ozmotikus nyomásviszonyokat illetve energiát biztosítanak a spermiumok számára.

Juhban friss sperma használata esetén a spermát a hüvelybe (vaginális MT) vagy a nyakcsatornába (cervikális MT) juttatják [18]. Leggyakrabban a cervikális megtermékenyítési módszert alkalmazzák, ilyenkor az anyajuhok testének hátulsó felét megemelik és pipetta, valamint speculum segítségével behelyezik a spermát. A hüvelybe történő inszemináció során az úgynevezett SID módszert, (shot-in-the-dark) eljárást alkalmazzák, mivel ilyenkor vakon, vizuális kontroll nélkül juttatják a sperma mintát a nyakcsatornába [19]. Friss spermás termékenyítés esetén figyelniük kell arra, hogy a spermiumok csupán rövid ideig őrzik meg a vitalitásukat szobahőmérsékleten. Ugyanis 20-24 °C-on anyagcsere folyamataik még aktívak, eme reakciók során számos káros melléktermék képződik, amelyek ezáltal csökkentik a hímivarsejtek életképességét. Hűtéssel és fagyasztással a sejtek anyagcsere folyamatai lelassulnak, de nem állnak le teljesen így 4-5 °C között a kos spermiumok körülbelül egy napig (6-12 óra) [20] tárolhatók. A legfontosabb ilyen melléktermékek a reaktív oxigén gyökök (ROS) képződése, melyek felhalmozódása a motilitás visszafordíthatatlan elvesztését idézi elő [21]. Nem csupán a szabadgyök-termelés, hanem a szeminális plazmatérfogat és összetevői is befolyással lehetnek a spermiumok életképességére, mozgására [22]. Emiatt elmondható, hogy az alacsonyabb plazmakoncentráció negatív hatással lehet a funkcionális paraméterek megőrzésére.

Fagyasztással a spermiumok -196 °C-on gyakorlatilag korlátlan ideig eltarthatók, mivel ilyenkor a sejt anyagcsere folyamatai leállnak, viszont a felengedési folyamat szintén káros hatással bír a spermiumokra. Emiatt fagyasztott sperma használatakor, a mozgékony csökkenése miatt a spermát közvetlenül a méh lumenébe kell helyezni, annak érdekében, hogy a legmagasabb vemhességi arányt érjük el. Erre transzcervikális vagy laparoszkópos intrauterin mesterséges termékenyítést alkalmazhatunk. Az anyajuhnak körülbelül 6–7 cm hosszú nyaki csatornája van, amelynek anatómiai szerkezete számos gyűrűt tartalmaz, ezek fizikai gátat

jelentenek a külső szennyeződésnek, de egyben akadályt is a transzcervikális MT-nek [23]. Emiatt juhok fagyasztott spermával végzett mesterséges termékenyítéséhez a laparoszkóppal történő inszeminálási technikát alkalmazzák. A laparoszkópos mesterséges termékenyítés az 1970 -es évek elején vált elterjedtté, a megfelelő berendezések kifejlesztésével [24]. Számos előnye van: felhasználható a szezonon kívüli tenyésztés hatékonyabb elvégzésére, továbbá kutatási és fejlesztési programok része lehet. A legnagyobb hátrány az eljárás költsége: a berendezések (laparoszkóp, fényforrás, trokarok, kanülök, érzéstelenítő és szike) beszerzése, karbantartása, a szakképzett munkaerő alkalmazása elengedhetetlen a sikeres folyamat végrehajtásához. A fagyasztott spermás laparoszkópos technika, nagyszámú anyajuh megtermékenyítését teszi lehetővé egy adott napon, valamint fokozza az embrióátültetési programokban a megtermékenyítési arányt. Ezen felül az elhullott vagy fizikailag cselekvőképtelen kosok spermájának felhasználása nagy gazdasági előnyökkel jár a juhágazat számára.

Összefoglalva elmondható az, hogy fagyasztott sperma használatakor a mozgékony, életképes spermiumok száma alacsonyabb, mint friss sperma esetén [25]. Mivel a fagyasztási folyamat számos káros stressz hatással jár, úgy mint a hőmérséklet változás, ozmotikus és toxikus stressz, illetve a jégkristály képződés. A spermiumok nagyon érzékenyek a környezet hőmérsékletének gyors változására. Ha a hűtést 30 °C és 0 °C között túl gyorsan végzik akkor olyan sokk hatás éri a spermiumokat, amely membrán károsodáshoz vezet. Ez a folyamat az úgynevezett hideg sokk, amely visszafordíthatatlan károsodást idéz elő a membrán lipid rétegében. A fagyasztás során a sperma mintához krioprotektív anyagot adnak, melyek segítik a sejt stabilizálását a fagyasztási és felolvasztási folyamat során. Ugyanakkor ezen anyagok hozzáadása és eltávolítása ozmotikus stresszt okozhat a spermiumok plazmamembránjában. A legelterjedtebb krioprotektív anyag a glicerin. Annak ellenére hogy a glicerin megvédi a sejteket a fagyasztás során fellépő sérülésektől, csökkenti a spermiumok motilitási képességét [26]. Viszont elmondható az, hogy a glicerin alapú magas ozmotikus nyomású adalék anyagok, kossperma fagyasztásához eredményesebben használhatók, mint a szacharóz vagy trehalóz tartalmú adalékok, illetve krioprotektáns mentes minták [27]. A harmadik stressz hatás a jégkristály képződése. Amikor az oldatot fagypontra hűtik, a víz kikristályosodik, amely a fagyott frakció ozmotikus nyomásváltozásával jár. Minél nagyobb a hőmérséklet annál kisebb az a frakció, ami még nem fagyott meg, ebből kifolyólag magasabb az oldat ozmotikus szilárdsága.

Összefoglalva elmondható tehát, hogy a krioprezervációs protokoll optimalizálásával is lesznek olyan sejtek, amelyek nem élik túl a fagyasztást. Emiatt a túlélő spermiumok szerepére is koncentrálnunk kell. Elég nagyszámú és megfelelő funkciójú, motilitású spermiumnak kell rendelkezésre állnia, hogy a megtermékenyítés sikeres legyen.

Különböző kutatások vizsgálták, hogy milyen tényezők vannak hatással a termékenységi adatokra. Számos faktor befolyásolja ezt az értéket, mind a női mind a hím nemben. Hímeknél a különböző fajokban számottevő vizsgálat igazolta, hogy a sperma minősége, azon belül is a spermiumok morfológiája és mozgása meghatározó szerepet tölt be a fertilizációs eredmények alakulásában [28]. Ebből adódóan a sperma mintát célszerű morfológiai és motilitás vizsgálatoknak alávetni.

#### **2.4 A spermiumok motilitása és annak értékelése, a CASA rendszer**

Maga a motilitás vizsgálat szubjektíven vizsgálható a megfelelő berendezésekkel, ilyen berendezés tulajdonképpen a megfelelő nagyítással rendelkező mikroszkóp, az alkalmas kondenzátor és a fűthető tárgyasztal. A motilitás vizsgálatát végezhetjük hígított vagy nyers (nem hígított) spermával [17]. A nem hígított sperma vizsgálatának negatívuma, hogy a nagy sejtsűrűség miatt a spermiumok egyedi mozgása nem értékelhető, emiatt csak a teljes motilitást, tömegmozgást tudjuk minősíteni. A sejtek mozgásának egyedi tanulmányozásához tehát elengedhetetlen a minta hígítása. A vizsgálat során megállapítják a mozgó sejtek arányát, a progresszív mozgást mutató spermiumok hányadát, továbbá a mozgási sebességet. Kutatások igazolták, hogy a szubjektív mikroszkópos értékelést alkalmazva 30-60%-os eltérések lehetnek a becsült értékekben [29]. Ennek köszönhetően nagyszámú módszer dolgoztak ki az objektív mérésre, úgy mint az áramlásos citometria, microfotográfias technika és számítógépes analízis [17]. Az 1980-as évek közepén piacra került számítógépes spermaelemzési módszer, a Computer Assisted Sperm Analysis (CASA), lehetővé tette a sperma motilitásának értékeléséhez szükséges objektív és pontos megközelítést. A sperma minta koncentrációja itt is meghatározó és mivel a kos spermája koncentráltabb a többi háziállatfajhoz képest, a mintát hígítanunk kell, ha a koncentráció meghaladja az  $50 \times 10^6$  spermium/ml értéket. Napjainkban több mint 12 CASA rendszert forgalmaznak. A legtöbb berendezés az egyedi mozgást is képes nyomon követni, így nem csak a tömegmozgásra koncentrálnak; valamint egyes rendszerek a morfológiát érintő változásokat is detektálják (fej formája, nagysága, fark hossza stb.) [30, 17]. A folyamat egyszerű, az első lépésben egy fázis-kontraszt mikroszkópra szerelt kamera érzékeli a spermiumokat és az adatokat közvetíti a számítógép felé. A második lépésben a berendezés feldolgozza a kapott információt. A CASA

rendszer leköveti a spermiumok mozgását, így számszerűsített adatokkal leírja a motilitást. Olyan paramétereket mér, mint a ténylegesen útvonal mentén mért sebesség (VCL - curvilinear velocity), az egyenes pályán mért sebesség (VSL- straight line velocity). Számított paraméterei közé tartozik a LIN (linearity) érték, amely a megtett út egyenességéről ad információt, kiszámítani az előbbi két mért paraméter alapján lehet (VSL/VCL) [31].

A spermiumok életképessége után a mozgásuk a legfontosabb tényező a fertillizáció során, mivel a hímivarsejtnek képesnek kell lennie arra, hogy átjusson a női nemitaktuson, a megtermékenyítés helyére mindemellett át kell fúrnia magát a petesejt zona pellucidáján a sikeres megtermékenyítés érdekében. A hímivarsejtek mozgása során különösen az előre haladó, progresszív mozgásnak van jelentősége [17].

A mozgás „motorját” a sejt mitokondriuma és az axonéma adja. Az előbbi sejtorganelumban bekövetkező strukturális változások hozzájárulhatnak a mozgásképeség csökkenéséhez. Az axonéma a spermiumok farki részének tengelyében húzódik, ez a tulajdonképpeni motor, az energiát pedig a mitokondriumokban lejátszódó oxidatív foszforiláció révén kialakult ATP fogja biztosítani [32]. Az axonémát mikrotubulusok és rostok építik fel, kilenc pár köralakban és kettő szinglett pár középen (9+2 elrendeződés). A hímivarsejtben termelt ATP kidiffundál az axonéma csúcsa felé. A flagelláris membránnak köszönhetően, az ATP és bizonyos esszenciális ionok (magnézium, kalcium, mangán stb.) koncentrációja megfelelő lesz az ATP hidrolíziséhez. A reakció során ADP (adenozin-difoszfát) és foszforsav keletkezik. Az energiatermelő folyamat enzime egy adenozin-trifoszfát, amelyet dineinek neveztek el. Ezek a dineinek a tubulusokon „lépegetve” haladnak a művelet során, ennek következtében a tubulusok egymáson elcsúsznak és a spermiumok farki része elhajlik. A mikrotubulusokat felépítő tubulinok depolarizációjának és polarizációjának zavara egyértelműen negatív hatással bír a motilitásra. A spermiumok fagyasztása olyan reaktív oxigén species-ek (ROS) kialakulását idézi elő, amelyek károsak lehetnek a tubulinok működésére, valamint csökkentik a motilitást [33].

Számos anyagot teszteltek, több fajnál, annak megállapítására, hogy fokozzák -e a spermiumok ellenállását a fagyasztás és felolvasztás stresszével szemben. Az egyik ilyen szer a pentoxifillin (3,7-dimetil-1-(5-oxohexil)-3,7-dihidro-1H-purin-2,6-dion).

## 2.5 Pentoxifillin

A pentoxifillin egy metil-xantin származék, amelyet 1984-ben hagytak jóvá intermittáló sántaság kezelésére a humán gyógyászatban, mivel javítja a mikrocirkuláció hatékonyságát és így fokozza a szöveti perfúziót. Ezenkívül növeli a vörösvérsejtek deformabilitását, ily módon csökkenti a vér viszkozitását, mindemellett a vérlemezkék aggregációjának redukálásával megakadályozza a trombus képződést [34].

A vörösvérsejteken kifejtett hatása miatt remekül alkalmazható átmeneti ischaemiás rohamok, agyi trombózis és vérzés, valamint krónikus cerebrovaszkuláris elégtelenség kezelésére, ugyanis az ATP szint növelésével fokozza a vörösvérsejt membrán rugalmasságát [35]. Az elasztikusság nagymértékben meghatározza a vér viszkozitását, amelyben szerepet játszik még a vérben lévő fibrinogén szint, a vérlemezke és vörösvértest aggregáció mértéke, továbbá a leukocita hiperraktivitás is. A pentoxifillin gátolja a vörösvértestek és vérlemezkék aggregációját, serkenti a fibrinolízist, ezáltal csökkenti a plazma fibrinogén szintjét, továbbá növeli a leukociták deformálhatóságát, tapadását [36]. Számos tényező, például a cAMP és a  $Ca^{2+}$  közötti kölcsönhatások, valamint a prosztaglandin képződése is szerepet játszik a vérlemezke aggregációban. A vérlemezkék cAMP -tartalma szabályozza a ciklooxygenáz aktiválását, amely prosztaglandin képződéshez vezet, ebből fakadóan pedig tromboxán  $A_2$  termelődéséhez. Ez pedig intravaszkuláris vérlemezke aggregációt idéz elő. Normál esetben az érfalban termelődött prosztaciklin aktiválja az adenilát-ciklázt, ez az enzim pedig megnöveli a ciklikus adenzin- monofoszfát koncentrációját és ekképpen gátolja a ciklooxygenáz enzim működését. A pentoxifillin foszfodiésteráz blokkoló hatása miatt, emeli a cAMP szintet, mindemellett stimulálja az endotheliumot, így az prosztaciklint szabadít fel, ami tovább gátolja a vérlemezkék aggregációját.

Antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatása is van. Az antioxidáns tulajdonság elsősorban a csökkent neutrofil aktivációnak tulajdonítható, mivel az aktivált neutrofilek szuperoxidot termelnek a NADPH (nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát) oxidázon keresztül [37]. Továbbá a pentoxifillin erős inhibitora, olyan citokineknek, mint az IL-1, IL-2, IL-6, valamint a TNF- $\alpha$  és IFN- $\gamma$  [38]. Ugyanakkor megakadályozza a vérlemezke aktiváló faktor neutrofilekre gyakorolt hatását és annak termelését. Továbbá befolyásolja a T-limfociták keratinocitákhoz való kötődését, emiatt előnyös lehet olyan gyulladáscsökkentő bőrbetegségek kezelésében, ahol ez a mechanizmus fontos szerepet játszik [39] Számos más bőrbetegség kezelésében is kifejtette pozitív hatását, mint például a necrobiosis lipoidica, a cutaneous polyarteritis nodosa és a generalizált morphea. Redukálja a fibrinogén termelést, emiatt gátló

hatást fejt ki a máj fibrogenezisének összes alapvető patobiokémiai reakciójára, ennek köszönhetően potenciális gyógyszer lehet a májfibrózis megelőzésében [40].

Megfigyelhetjük tehát, hogy a pentoxifillin számottevő pozitív eredménnyel bír az orvoslásban, ebből kifolyólag nem csak az emberek gyógyítására, hanem az állatgyógyászatban is igénybe veszik. A fentebb említett gátló hatása miatt atópiás dermatitisben szenvedő kutyák kezelésére használható, többszörösen telített zsírsavakkal kiegészítve [41,45]. Nagyszámú tanulmány utal a pentoxifillin előnyeire dermatomyositis, szisztémás lupus erythematosus, ezenfelül vasculitis kezelésére az állatorvosi gyakorlatban [42]. Valamint fülszegély seborrhea vagy nekrozis ellen való használatáról is számos értekezés született már.

Foszfodiészteráz gátló hatása miatt megemeli a ciklikus nukleotidok számát, ennek köszönhetően a ló lábvégi ereinek vaszkuláris simaizom tónusának szabályozásában kulcs szerepet tölthet be, mivel endotéliumtól függő és független utakon is relaxációt fejthet ki a vénákon. Elmondható tehát az, hogy az érrendszer védő tulajdonsága következtében megoldást jelenthet heveny patairha-gyulladásban szenvedő lovak kezelésében [43]. Szintén lehetséges az alkalmazása, a mikrocirkulációra kifejtett sajátossága miatt még a lótenyésztésben, az értékes tenyészmének here perfúziójának javítására. Így szerepet játszva a nagyszámú, jó minőségű spermiumtermelésre [44]. Az állattenyésztésben nem csak a herék keringésének növelésére, hanem a spermiumok mennyiségének és életképességének fokozására van szükség.

Az már ismert, hogy a fagyasztás utáni felengedési folyamat csökkenti a spermiumok mozgékonyágát és életképességét, így azok megtermékenyítési potenciálját is [45]. A spermiumok mozgási paramétereinek romlása és a zona pellucida- hoz való kötődés képességének csökkenése, a fő oka a férfi meddőségnek [46]. Ahhoz, hogy a spermium képes legyen kötődni a petesejthez és létrejöjjön a fertilizáció, szükség van a spermiumok kapacitációjára. Ez számos biokémiai és funkcionális módosítás sorozata a hímivarsejten belül. E folyamatban a ciklikus adenzin – monofoszfát (cAMP) meghatározó szerepet tölt be. A spermiumokban a cAMP szintjét két fő enzim szabályozza, az adenilát – cikláz és a foszfodiészteráz, melyek katalizálják a cAMP szintézisét és lebontását [47]. A metil – xantin származékok, akár csak a pentoxifillin a sejtek foszfodiészteráz aktivitását gátolják, ami így az intracelluláris cAMP szint emelkedéséhez vezet. A ciklikus adenzin – monofoszfát serkenti a spermiumok motilitását a cAMP – függő protein – kináz aktiválásával [48], amely a fehérjék tirozin foszforilációjának szabályozásában játszik szerepet. A fehérjék foszfor csoporttal való ellátása egy moduláló mechanizmus, amely számos sejt folyamatban játszik szerepet, úgy mint



a sejtnövekedés, a sejt ciklus-kontroll, a citoskeleton-összeállítás, az ion-moduláció és a receptor szabályozás, valamint a kapacitáció [49]. A foszforiláció történhet a szerin, treonin és tirozin fehérjéken, annak ellenére, hogy a szerin továbbá a treonin foszforilációjáról is beszámoltak a hímivarsejtekben, a legjelentősebbnek a tirozin foszforiláció bizonyult. Úgy tűnik, hogy a farki rész (flagellum), a spermiumok fő alkotóeleme, amely tirozin – foszforiláción megy keresztül a legtöbb fajban. A pentoxifillinről kiderült az is, hogy megemeli a hímivarsejtek keratin – kináz (CK) enzimének működését [50]. A CK a kreatin – foszfát és a kreatin átalakításával az ATP regenerációjában játszik szerepet. Ezenfelül a pentoxifillin növeli a spermiumban a termelt nitrogén-monoxid szintjét [51]. Ebből adódóan a guanilát-cikláz aktiválásával, a ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) előállításával és a cGMP-függő protein-kinázok aktiválásával stimulálja a spermiumok motilitását.

Habár nem emeli a mozgásra képes spermiumok mennyiségét a fagyasztás után, az addig élő, de nyugvó spermiumok mozgását serkenti, ennek köszönhetően felhasználható intracitoplazmatikus spermium injekció (ICSI) eljárás során. Ebben a folyamatban nagyon lényeges, hogy megfelelő motilitású spermiumot fecskendezzenek a petesejtbe. A pentoxifillin alkalmazása lehetővé teszi az élő, motilis spermiumok jobb és gyorsabb azonosítását és kiválasztását az ICSI számára, ami jobb megtermékenyítési arányt idéz elő és rövidebb időráfordítást igényel [52]. Számos tanulmány beszámolt arról, hogy a pentoxifillin javíthatja a spermiumok mozgását anélkül, hogy káros hatást gyakorolna a spermium kromatin/DNS integritására a vitrifikáció során [53].

A pentoxifillint nem csupán humán területen használják a meddőség orvosolására, hanem az állattenyésztésben is a spermiumok motilitásának fokozására az asszisztált reprodukciós eljárások során. Számos tanulmány van a felhasználására a különböző állatfajokban (kutyában [54], lóban [55], szarvasmarhában [56] és juhokban [57]), amelyekben eltérő koncentrációban alkalmazták a szert, különböző eredménnyel. A kísérletünk során a pentoxifillin, kos spermiumok motilitására gyakorolt hatását vizsgáltuk.

### 3 Anyag és módszer

A vizsgálatunk célja közt az szerepelt, hogy adatokat gyűjtsünk azzal kapcsolatban, hogy a pentoxifillin képes-e javítani a fagyasztott kos spermiumok motilitását.

A kísérletet kereskedelmi forgalomban kapható, fagyasztott (-196 °C-on tárolt) kossperma felhasználásával végeztük. A felhasznált mintákat a Debreceni Egyetem együttműködésével szereztük be. A fagyasztott – felolvasztott kos spermát pentoxifillinnel kezeltük. A sperma mintákhoz 1 és 2 mg/ml koncentrációjú pentoxifillint adtunk.

Kísérletünk első fázisa egy, laparoszkópos termékenyítés hatékonyságának növelésére irányuló kísérlet része volt; itt 18 műszalmát vizsgáltunk 30 perccel a pentoxifillines kezelést követően, a termékenyítést megelőzően; ebből 10 termékenyítő dózist 1mg/ml, 8-at 2 mg/ml pentoxifillinnel kezeltünk. Ezen felül 7 műszalmán végeztünk eltarthatósági vizsgálatot, amely során a 0., 30. és 60. percben vizsgáltuk a motilitást 1, illetve 2 mg/ml-es koncentrációjú pentoxifillines kezelés után. Az utóbbi kísérletben a műszalmák teljes tartalmát felhasználtuk, így minden szalmából készítettünk 1 mg/ml, és 2 mg/ml koncentrációjú pentoxifillinnel hígított mintát.

A spermiumok kezelésére használt pentoxifillint módosított szövet kultúra médium (mTCM-199) és 10%-os magzati borjú savó (FCS) tartalmú oldatban oldottuk fel. A fagyasztott spermát tartalmazó műszalmákat 35°C-os vízfürdőben, negyven másodpercig melegítettük, majd a műszalmák tartalmát Eppendorf csőbe engedték. Ezután az eltarthatósági vizsgálatához az Eppendorf csőben található natív mintán, elvégeztük a spermiumok mozgásának az értékelését, CASA berendezés (MTG Germany) segítségével. Az adatok feljegyzése után elvégeztük a minták pentoxifillines kezelését. Az 1 mg/ml-es illetve a 2 mg/ml-es koncentrációjú pentoxifillinnel hígított sperma mintákat 37 °C-on, harminc percig inkubátorba helyeztük. Az inkubációs idő letelte után motilitás vizsgálatot végeztünk, amelyhez szintén a CASA készüléket használtuk. Majd a mintákat visszahelyeztük az inkubátorba, ahol további harminc percnyi inkubáció várt rájuk 37 °C-on, és a 60. percben is motilitás-vizsgálatot végeztünk.

A laborunkban használt CASA gép négy kategóriát különít el motilitás szempontjából (a WHO által meghatározott paraméterek szerint: gyors progresszív, egyenes vonalú; lassú, progresszív, egyenes vonalú; helyben mozgó (nem progresszív); nem mozgó (immotilis). A CASA berendezés segítségével nyert eredmények statisztikai elemzését az R program segítségével elemeztük.

Vizsgáltuk a 30. percben végzett motilitás vizsgálatok átlagát és szórását, valamint a különbségeket az 1, illetve 2 mg/ml-es koncentrációjú pentoxifillines kezelés között. A motilitás és a kezelési csoport közötti összefüggést lineáris regresszió, illetve one-way ANOVA vizsgálattal elemeztük. Szintén one-way ANOVA segítségével értelmeztük az eltarthatósági vizsgálatok eredményét.

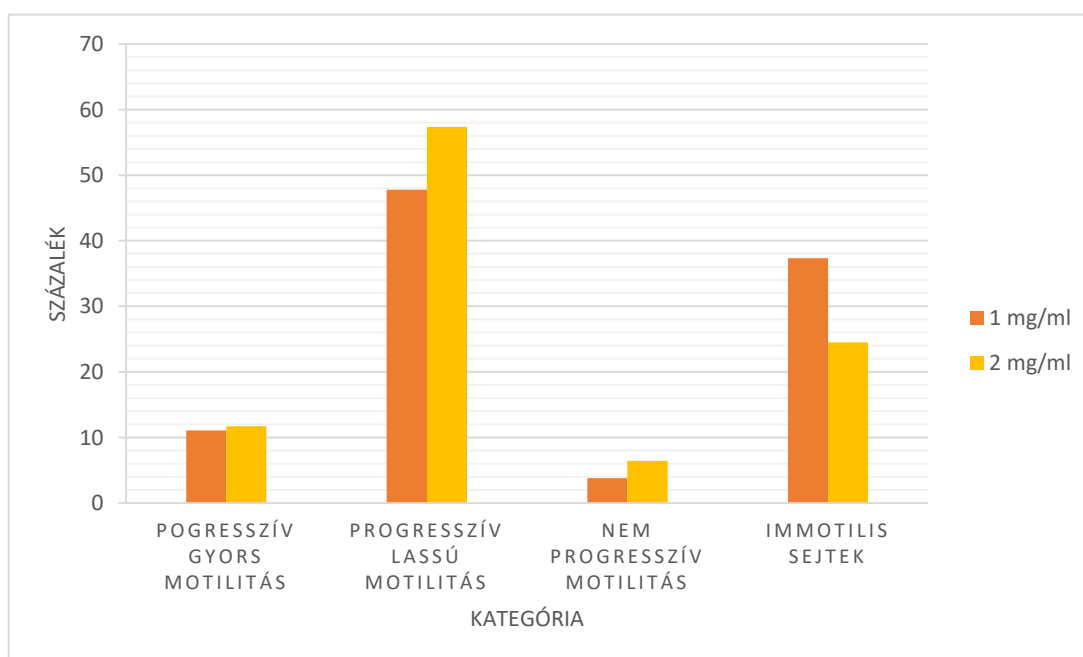
## 4 Eredmények

A 0. percben a lassú progresszív motilitású sejtek aránya  $71,00(\pm 11,01)\%$ , a gyors progresszív  $7,14(\pm 10,65)\%$  volt. A natív mintában az immotilis spermiumok megoszlása  $7,71(\pm 3,64)\%$ , a nem progresszív motilitású sejtek aránya pedig  $7,71(\pm 3,64)\%$  volt.

2. táblázat: A 30. percben mért motilitás vizsgálatok eredménye (átlag, szórás)

Mozgás típusa	1 mg/ml(szórás)	2 mg/ml(szórás)	Szignifikancia
<b>progresszív lassú</b>	47,76( $\pm 11,33$ )	57,35( $\pm 9,08$ )	p=0,016
<b>progresszív gyors</b>	11,06( $\pm 7,19$ )	11,71( $\pm 5,27$ )	nincs szign. kül.
<b>nem progresszív.</b>	3,82( $\pm 2,35$ )	6,43( $\pm 3,03$ )	p=0,0116
<b>immotilis</b>	37,35( $\pm 16,58$ )	24,5( $\pm 11,32$ )	p=0,02

A 30. percben mért gyors progresszív motilitás az 1 mg/ml koncentrációjú pentoxifillinnel kezelt csoportban  $11,06 (\pm 7,19)\%$  volt, míg a 2 mg/ml pentoxifillinnel kezelt csoportban  $11,71 (\pm 5,27)\%$ . A két csoport között a 30. percben nem volt szignifikáns különbség. Az immotilis spermiumok aránya szignifikánsan magasabb (p=0,02) volt az 1 mg/ml-es csoportban,  $37,35 (\pm 16,58)\%$ . Miközben a nem progresszív motilitású sejtek megoszlása a 2 mg/ml-es csoportban volt szignifikánsan (p= 0,0116) emelkedett  $6,43(\pm 3,03)\%$ . A 2 mg/ml-es csoportban a lassú progresszív motilitás  $57,35(\pm 9,08)\%$  volt; amely szignifikánsan magasabb (p=0,016), mint az 1 mg/ml koncentrációjú pentoxifillinnel kezelt csoportban,  $47,76(\pm 11,33)\%$ . (2. táblázat, 3.ábra)



3. ábra: A 30.percben végzett motilitás vizsgálatok eredménye

A 30. és 60. percben kapott eredmények között a progresszív lassú motilitás szempontjából sem az 1 mg/ml-es, sem a 2 mg/ml-es csoportban nem volt szignifikáns különbség. Az 1 mg/ml koncentrációjú pentoxifillinnel kezelt csoportban a nem progresszív motilitású sejtek aránya a 30.percben szignifikánsan ( $p=0,0252$ ) magasabb volt  $5,0(\pm 3,0)\%$ , mint a 60. percben mért  $1,70(\pm 1,6)\%$  érték (3.táblázat, 3.ábra).

3. táblázat: A 30 és 60. percben végzett motilitás vizsgálatok összehasonlítása az 1 mg/ml-es csoportban (átlag, szórás)

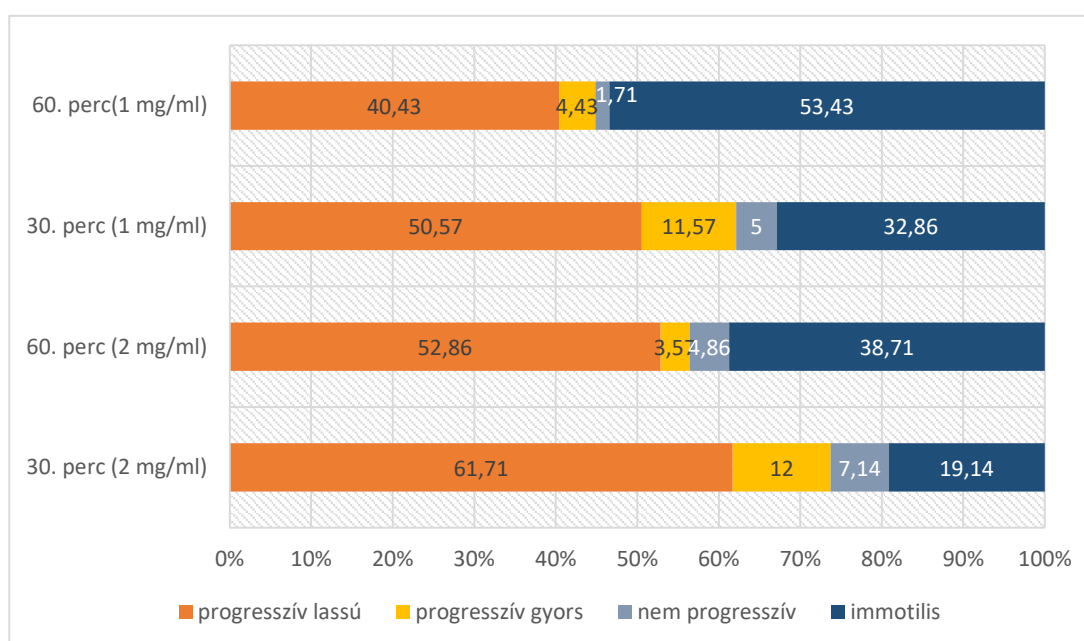
Motilitás	30 p	60 p	Szignifikancia
<b>progresszív lassú</b>	50,57( $\pm 16,05$ )	40,43( $\pm 11,65$ )	nincs szign. kül.
<b>progresszív gyors</b>	11,57( $\pm 7,16$ )	4,43( $\pm 3,51$ )	$p=0,0354$
<b>nem progresszív</b>	5,0( $\pm 3,0$ )	1,71( $\pm 1,6$ )	$p=0,0252$
<b>immotilis</b>	32,86 ( $\pm 22,73$ )	53,43( $\pm 14,52$ )	$p=0,0665$ (tendencia)

A 2 mg/ml-es csoportban a 30. percben  $7,14(\pm 3,02)\%$  volt a nem progresszív motilitású spermiumok aránya, a 60. percben pedig  $4,86(\pm 3,24)\%$  (3. táblázat, 4. ábra). A két csoport között a nem progresszív motilitású sejtek megoszlásában nem volt szignifikáns különbség. A gyors progresszív motilitású spermiumok aránya az 1 mg/ml koncentrációjú pentoxifillinnel kezelt csoportban a 30. percben  $11,57(\pm 7,16)\%$ , a 60. percben  $4,43(\pm 3,51)\%$  volt.

4. táblázat: A 30. és a 60. percben végzett motilitás vizsgálatok összehasonlítása a 2 mg/ml-es csoportban (átlag, szórás)

Motilitás	30 p	60 p	Szignifikancia
<b>progresszív lassú</b>	61,71( $\pm 9,09$ )	52,86( $\pm 14,4$ )	nincs szign. kül
<b>progresszív gyors</b>	12,0( $\pm 5,51$ )	3,57( $\pm 2,64$ )	$p=0,00331$
<b>nem progresszív</b>	7,14( $\pm 3,02$ )	4,86( $\pm 3,24$ )	nincs szign. kül
<b>immotilis</b>	19,14( $\pm 7,58$ )	38,71( $\pm 17,41$ )	$P=0,0184$

A 2 mg/ml-es csoportban a 60. percen 3,57(±2,64)%, a 30. percen 12,0(±5,51)% volt a progresszív gyors motilitást végző sejtek aránya (3. táblázat, 3.ábra). Mind az 1 mg/ml-es (p=0,0354), mind a 2 mg/ml-es csoportban (p=0,00331) szignifikánsan magasabb volt a gyors progresszív motilitású spermiumok aránya a 30. percen. Az immotilis sejtek aránya a 60. percen 53,43(±14,52)% volt az 1 mg/ml-es csoportban, amely tendenciózusan (p=0,0665) magasabb a 30. percen mért 32,86(22,73)%-hoz képest. A 2 mg/ml koncentrációjú pentoxifillint tartalmazó csoportban a 30. percen az immotilis spermiumok aránya 19,14(±7,58)%, a 60. percen 38,71(±17,41)% volt. A 30. és 60. perc között az immotilis sejtek aránya a 60.percen szignifikánsan (p=0,0184) magasabb volt.



4. ábra: A különböző koncentrációval kezelt minták 30. és 60. percen végzett motilitás vizsgálatának eredményei

## 5 Megbeszélés/következtetések

A juhok által termelt állati termékek, mint a juhhús, -tej és gyapjú, sokoldalú hasznosítása miatt, a juhtartás elterjedt Magyarországon. A hazai juhállomány száma az utóbbi tíz évben megközelítőleg 1,1 millió körül mozog (ebből anyajuh: 800 ezer) [1]. Az elmúlt években a belföldi juhhústermelés növekvő tendenciát mutat. 2019-ben például körülbelül 1500 tonna húst állítottak elő a gazdaságok, amelyből 400 tonna került kivitelre. Magyarországon jelenleg a juhászatok bevételének döntő hányada vágóbárányok eladásából származik [9]. Emiatt nagyon fontos a szaporaság növelése, a két ellés közti idő lerövidítése. Ehhez elkerülhetetlen az asszisztált reprodukciós technikák (ART) alkalmazása.

Az egyik legrégebbi és leggyakrabban alkalmazott asszisztált reprodukciós módszer az állattenyésztésben a mesterséges termékenyítés (MT) [11]

A spermiumok sikeres fagyasztva tárolása, valamint a szuperovuláció és az ösztroz szinkronizáció alkalmazása az állattenyésztésben jelentős fejlődéséhez vezettek és forradalmasították az asszisztált reprodukciós eljárásokat, azon belül is a mesterséges termékenyítést [12]. Bizonyos haszonállatfajokban évtizedek óta kizárólagosan alkalmazzák, azonban a juhágazatban egyelőre kiegészítő szerepe van. Ennek egyik oka, hogy a kossperma motilitása, így fertilizációs képessége is, jelentősen csökken a fagyasztási eljárás során.

Kísérletünkben egy, egyéb állatfajokban alkalmazott motilitásnövelő hatóanyag, a pentoxifillin hatását vizsgáltuk fagyasztott-felolvasztott kossperma motilitására. A pentoxifillin egy metil-xantin származék, amelynek szerteágazó hatása van a sejtszintű anyagcsere-folyamatokra. Klinikai felhasználása ennek megfelelően sokrétű. Egyik felhasználási területe a humán meddőség kezelése, amennyiben azt a hímivarsejtek alacsony motilitása okozza.

A metil – xantin származékok, akár csak a pentoxifillin, a sejtek foszfodiészteráz aktivitását gátolják, ami így az intracelluláris cAMP szint emelkedéséhez vezet. A ciklikus adenzin – monofoszfát serkenti a spermiumok motilitását a cAMP – függő protein – kináz aktiválásával [48], amely a fehérjék tirozin foszforilációjának szabályozásában játszik szerepet.

Habár a pentoxifillin nem emeli a mozgásra képes spermiumok mennyiségét, az élő, de nyugvó spermiumok mozgását serkenti, ennek köszönhetően felhasználható a motilitás általános növelésére [52]. Továbbá beszámoltak arról, hogy a pentoxifillin javíthatja a spermiumok mozgását anélkül, hogy káros hatást gyakorolna a spermium kromatin/DNS integritására a fagyasztás során [53].

Számos tanulmány van a felhasználására a különböző állatfajokban. Mirshokraei és munkatársai friss kutyaspermánál vizsgálták a pentoxifillin hatását különböző koncentrációban a spermiumok motilitására, illetve a kapacitációra. Eredményeik alapján a pentoxifillin mind a motilitást, mind a kapacitált spermiumok számát növelte friss kutyaspermában [54]. Gradil és Ball hűtött lósperma motilitását vizsgálták fagyasztás előtti, illetve utáni pentoxifillin kezelést követően. A hűtött, illetve fagyasztás után kezelt sperma motilitása javult, ellenben a fagyasztás előtt kezelté csökkent. [55]. Barakat és munkatársai a koffein, pentoxifillin és kallikrein hatását vizsgálták szarvasmarha fagyasztott sperma motilitására. Eredményeik alapján a koffein és pentoxifillin növelte az összmotilitást és a progresszív motilitást [56].

Maxwell és munkatársai több vegyületet tanulmányozott a kossperma motilitására kifejtett hatásuk alapján. Az általuk vizsgált vegyületek közül egyedül a pentoxifillin növelte a motilitást spermio toxikus hatás nélkül. A spermiumokat 6 órás időintervallumban vizsgálták. A 4. órát követően gyorsabb motilitás csökkenést tapasztaltak, mint a kontroll mintákban. Mi az általunk végzett kísérlet során nem tapasztaltunk nagymértékű motilitás csökkenést. Ebben a kísérletben a kezelt spermát intruterin termékenyítésre is felhasználták, és a kontroll spermához képest magasabb arányú vemhességet tudtak elérni a pentoxifillinnel kezelt spermával (41% ill. 52 %) [57]. A szerzők a fentebb említett motilitáscsökkenésnek tudják be, hogy nem volt nagyobb különbség a vemhesülések számában. A felhasznált koncentráció tekintetében nincs konszenzus a szakirodalomban: 0,1-100 mM/ml között is találunk értékeket.

Az általunk végzett kísérletben *in vitro* vizsgáltuk a pentoxifillin hatását fagyasztott kossperma motilitására CASA segítségével. A laborunkban használt CASA gép négy kategóriát különít el motilitás szempontjából (a WHO által meghatározott paraméterek szerint: gyors progresszív, egyenes vonalú; lassú, progresszív, egyenes vonalú; helyben mozgó (nem progresszív); nem mozgó (immotilis). A fertilizáció szempontjából elsődlegesen a progresszív motilitású, azon belül is a lassú progresszív mozgást végző spermiumok aránya a legfontosabb.

Kísérletünk első fázisa egy laparoszkópos termékenyítés hatékonyságának növelésére irányuló kísérlet része volt. Tizennyolc műszalmát vizsgáltunk 30 perccel a pentoxifillines kezelést követően, a termékenyítést megelőzően. Ebből tíz termékenyítő dózist 1mg/ml koncentrációjú, 8-at 2 mg/ml koncentrációjú pentoxifillinnel kezeltünk. Mindemellett 7 műszalmán végeztünk eltarthatósági vizsgálatot, amely során a 0., 30. és 60. percben vizsgáltuk a motilitást a különböző (1mg/ml illetve 2 mg/ml-es) koncentrációjú pentoxifillines kezelés után. Az utóbbi kísérletben a műszalmák teljes tartalmát felhasználtuk, így minden szalmából készítettünk 1 mg/ml, és 2 mg/ml koncentrációjú pentoxifillinnel hígított mintát. Az eredmények statisztikai elemzését az R program segítségével végeztük.

A 30. percen mért lassú progresszív motilitás tekintetében különbséget találtunk az 1 illetve 2 mg/ml koncentrációjú pentoxifillinnel kezelt csoportban: a 2 mg/ml-es csoport motilitása szignifikánsan magasabb volt. A lassú progresszív motilitás a leglényegesebb a fertilizáció során, így ez az információ jelentős. Szintén szignifikánsan magasabb volt a 2 mg/ml-es csoportban a nem progresszív motilitású sejtek aránya, míg a gyors progresszív motilitás szempontjából nem volt szignifikáns különbség. Az immotilis sejtek aránya az 1



mg/ml-es csoportban volt szignifikánsan magasabb. Ezek alapján elmondható, hogy a 2 mg/ml koncentrációjú pentoxifillines kezelés hatékonyabban növelte a motilitást.

A 30. és 60. percben kapott eredmények között a progresszív lassú motilitás szempontjából sem az 1 mg/ml-es, sem a 2 mg/ml-es csoportban nem volt szignifikáns különbség. Ebből következtethetünk arra, hogy a vizsgált időintervallumban a pentoxifillin nem növeli a progresszív lassú motilitás csökkenésének sebességét 2 mg/ml koncentrációban sem. A progresszív gyors motilitás ugyanakkor szignifikánsan alacsonyabb volt a 60. percben mind a két csoportban, tehát ezt a típusú motilitást a pentoxifillin nem tudja fenntartani.

A nem progresszív motilitás tekintetében különbséget találtunk az az 1 mg/ml-es és a 2 mg/ml-es csoport között: míg az 1 mg/ml-es csoportban a 60. percben a nem progresszíven mozgó sejtek aránya szignifikánsan alacsonyabb volt (ezzel párhuzamosan az immotilis sejtek aránya a 60. percben magasabb volt, tehát a nem progresszív sejtek jó része immotilissá vált), addig a 2 mg/ml-es csoportban nem tapasztaltunk szignifikáns csökkenést. Ennek jelentősége kérdéses, mivel a nem progresszív motilitású spermiumok szerepe a fertilizációban csekély.

Az immotilis sejtek aránya mind a 1 mg/ml-es, mind a 2 mg/ml-es csoportban növekedett a 60. percre. Az immotilissá váló sejtek nagy része az arányok változása alapján a nem progresszív, illetve a progresszív gyors motilitású sejtek közül került ki, ez azonban nem jelenthető ki teljes bizonyossággal, hiszen a spermiumok egyedi nyomonkövetésére jelenleg nem áll rendelkezésünkre eljárás.

Az általunk végzett kísérlet eredményei összhangban vannak a szakirodalomban található eredményekkel, azaz a pentoxifillin motilitásra gyakorolt jótékony hatását mi is ki tudtuk mutatni. Kísérletünkben ez a hatás főleg a progresszív lassú motilitás csökkenésének mérséklődésében mutatkozott meg. Ez az eredmény mindenképp biztató, bár nem jelenthető ki egyértelműen, hogy a fertilizációra olyan mértékű pozitív hatást fog gyakorolni, amely kimutatható lesz a vemhesülési ráta növekedésében is. Az eredmények magas szórása arra utal, hogy nagy egyedi különbségekkel kell számolni motilitás szempontjából a kossperma esetén is (mint a legtöbb más állatfajban).

Szándékunkban áll az általunk végzett in vitro vizsgálatokat in vivo is megismételni, azaz a pentoxifillines kezelés hatását vizsgálnánk a fertilizációra. Fagyasztott sperma esetén ez laparoszkópos mesterséges termékenyítés alkalmazásával valósítható meg. Felmerülhet még a pentoxifillin hatásának vizsgálata friss kossperma motilitására. Ennek a friss spermás, intravaginális termékenyítés esetén lenne potenciális jelentősége; csökkenthető lenne

a fertilizációhoz szükséges spermiumszám, így egy ejakulátum felhasználásával nagyobb számú anya lenne termékenyíthető.

## 6 Összefoglalás

A fagyasztási eljárás utáni felengedési, olvadási folyamat csökkenti a spermiumok motilitását, életképességét és megtermékenyítési potenciálját. A pentoxifillin, mint metil-xantin szárazék foszfodiészteráz gátló hatása miatt képes megemelni a hímivarsejtekben a cAMP koncentrációját, amely a mozgékonyág növeléséhez, az akroszóma reakció fokozásához, valamint a spermiumok zona pellucidán való áthaladását segíti elő. Ebből kifolyólag nagy valószínűséggel pozitív hatással van a fertilizációs arányra. Kísérletünkben a pentoxifillin hatását kosspermán vizsgáltuk.

Kereskedelmi forgalomban kapható fagyasztott kosspermával dolgoztunk. A 0,25 ml-es szalmákat felolvasztást követően CASA-val (Computer Assisted Sperm Analysis) vizsgáltuk. A mintákat kétféle koncentrációjú pentoxifillinnel kezeltük (1 mg/ml, 2 mg/ml), és mértük a spermiumok motilitását a 0., 30. és 60. percben. Összehasonlítottuk az összmotilitást, progresszív gyors illetve lassú motilitású spermiumok arányát, valamint a nem progresszív és immotilis sejtek arányát a kezelt spermában. A 0. percben natív mintán, a 30. és 60. percben kezelt mintákon végeztük el a vizsgálatot.

Az eredmények statisztikai értékelését ANOVA próbával végeztük. A 30. és 60. perc között a lassú progresszív motilitás szempontjából sem az 1 mg/ml-es, sem a 2 mg/ml-es csoportban nem volt szignifikáns különbség. A gyors progresszív motilitás mind az 1 mg/ml-es, mind a 2 mg/ml-es csoportban szignifikánsan magasabb volt a 30. percben. A nem progresszív motilitás az 1 mg/ml-es csoportban magasabb volt a 30. percben, a 2 mg/ml-es csoportban nem volt szignifikáns különbség a 30. és 60. percben. Az immotilis spermiumok aránya az 1 mg/ml-es csoportban tendenciózusan, a 2 mg/ml-es csoportban szignifikánsan magasabb volt a 60. percben.

A 30. perc eredménye alapján végzett ANOVA próba alapján a 2 mg/ml-es csoportban a lassú progresszív, illetve a nem progresszív motilitás szignifikánsan magasabb volt. Gyors progresszív motilitás tekintetében nem volt szignifikáns különbség a két csoport között. Az immotilis spermiumok aránya az 1 mg/ml-es csoportban volt szignifikánsan magasabb.

Eredményeink alapján a pentoxifillin a használt koncentrációkban nem fejt ki citotoxikus hatást a spermiumokra, fagyasztott kossperma esetén, és a lassú progresszív motilitást (amely a fertilizáció szempontjából kritikus) az általunk vizsgált időintervallumban fenn tudja tartani.

## 7 Irodalomjegyzék

- [1]. Központi Statisztikai Hivatal (2022) Szarvasmarha-, sertés-, ló-, juh-, bivaly-, szamár, öszvér- és kecskeállomány. URL: [https://www.ksh.hu/stadat\\_files/mez/hu/mez0027.html](https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0027.html)  
Letöltés ideje: 2022.11.16
- [2]. Paládi-Kovács Attila Szerk. (2001) Magyar Néprajz nyolc kötetben. Akadémia Kiadó, Budapest
- [3]. F. Teletchea (2019) Animal Domestication: A Brief Overview IntechOpen  
<https://doi.org/10.5772/intechopen.86783>
- [4]. Kijas JW, Lenstra JA, Hayes B, Boitard S, Porto Neto LR, et al. (2012) Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. PLoS Biology. 10 (2)  
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001258>
- [5]. Chessa B, Pereira F, Arnaud F, Amorim A, Goyache F, et al. (2009) Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. Science Vol. 324 (5926), 532-536  
<https://doi.org/10.1126/science.1170587>
- [6]. Polgár Péter, Toldi Gyula (2011): Juh- és kecsketenyésztés. Pannon Egyetem; Kaposvári Egyetem  
[https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0059\\_juh\\_es\\_kecsketenyesztes/index.html](https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0059_juh_es_kecsketenyesztes/index.html)
- [7]. Központi Statisztikai Hivatal (2022) Ló- és juhhúsmérleg.  
URL: [https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat\\_hosszu/elm03.html](https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_hosszu/elm03.html). Letöltés ideje: 2022.11.16
- [8]. Központi Statisztikai Hivatal (2022) Juhállomány megye és régió szerint félévente (ezer db)  
[https://www.ksh.hu/stadat\\_files/mez/hu/mez0115.html](https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0115.html) Letöltés ideje: 2022.11.16
- [9]. Horn P., Bögréné Bodrogi G, Sáfár L., Hajduk P. (2012) A juhtenyésztés világ és európai tendenciái, komplex környezeti és az éghajlat változás hatásai. In: A juhtenyésztés időszzerű kérdései, 2012. október 30, Magyar Tudományos Akadémia Székháza, Állattenyésztés és Takarmányozás, 61(3): 195-214.
- [10]. Sejian V., Bhatta R., Gaughan J., Malik P.K., Naqvi S.M.K., Lal R. (2017) Adapting Sheep Production to Climate Change. Springer, Singapore.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-10-4714-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-10-4714-5_1)
- [11]. Foote, R. H. (2010). The history of artificial insemination: Selected notes and notables. J. Anim. Sci, 80  
<http://kenanaonline.com/files/0066/66730/11.pdf> Letöltés ideje: 2022.11.16
- [12]. Verma OP, Kumar R, Kumar A and Chand S., (2012) Assisted Reproductive Techniques in Farm Animal - From Artificial Insemination to Nanobiotechnology. Vet. World. 5(5):301-310  
<https://doi.org/10.5455/vetworld.2012.301-310>
- [13]. BL Lasley, NM Loskutoff, GB Anderson (1994) The limitation of conventional breeding programs and the need and promise of assisted reproduction in nondomestic species. Theriogenology. 41 119-132  
[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(05\)80057-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(05)80057-3)
- [14]. Rosa H. J. D., Bryant, M. J. (2003). Seasonality of reproduction in sheep. Small ruminant research, 48(3), 155-171.  
[https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00038-5](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00038-5)

- [15]. Anna T. Grazul-Bilska (2004) Assisted Reproductive Technology in Sheep (A review) Department of Animal and Range Sciences, North Dakota State University, Fargo  
URL: [https://www.researchgate.net/profile/Anna-Grazul-Bilska/publication/268323806\\_Assisted\\_Reproductive\\_Technology\\_in\\_Sheep\\_A\\_review/links/58011e6808ae1c5148c9fb87/Assisted-Reproductive-Technology-in-Sheep-A-review.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Anna-Grazul-Bilska/publication/268323806_Assisted_Reproductive_Technology_in_Sheep_A_review/links/58011e6808ae1c5148c9fb87/Assisted-Reproductive-Technology-in-Sheep-A-review.pdf) Letöltés dátuma: 2022.11.16
- [16]. Abecia, J. A., Forcada, F., & González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal reproduction science*, 130(3-4):173-179.  
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.011>
- [17]. Cseh Sándor (2020) Állatorvosi Andrológia. A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., Budapest
- [18]. Gibbons, A. E., Fernandez, J., Bruno-Galarraga, M. M., Spinelli, M. V., Cueto, M. I. (2019) Technical recommendations for artificial insemination in sheep. *Animal reproduction*. 16 803-809.  
<https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0129>
- [19]. W. M. C. Maxwell, L.J. Hewitt (1986) A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination of sheep. *The Journal of Agricultural Science*. 106(01) 191  
<https://doi.org/10.1017/S0021859600061906>
- [20]. Kulaksiz, R., Çebi, Ç., & AKÇAY, E. (2012). The effect of different extenders on the motility and morphology of ram sperm frozen or stored at 4 C. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 36(2): 177-182.  
<https://doi.org/10.3906/vet-1103-11>
- [21]. Paulenz, H., Söderquist, L., Pérez-Pé, R., & Berg, K. A. (2002). Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. *Theriogenology*, 57(2): 823-836.  
[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00683-5](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00683-5)
- [22]. Gundogan, M., Yeni, D., Avdatek, F., & Fidan, A. F. (2010). Influence of sperm concentration on the motility, morphology, membrane and DNA integrity along with oxidative stress parameters of ram sperm during liquid storage. *Animal reproduction science*, 122(3-4): 200-207. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.012>
- [23]. Faigl V., Vass N., Jávör A., Kulcsár M., Solti L., Georgios A., Cseh S.(2012) Artificial Insemination of Small Ruminants – A review. *Acta Veterinaria Hungarica*. 60(1): 115-129.  
<https://doi.org/10.1556/avet.2012.010>
- [24]. Gourley, D. D., Riese, R. L. (1990). Laparoscopic artificial insemination in sheep. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 6(3): 615-633.  
[https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30836-7](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30836-7)
- [25]. Watson, P. F. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal reproduction science*, 60: 481-492.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00099-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00099-3)
- [26]. Z. Nur, B. Zik, B. Ustuner, H. Sagirkaya, C.G. Ozguden. (2010). Effects of different cryoprotective agents on ram sperm morphology and DNA integrity. *Theriogenology*, 73(9):1267-1275.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.12.007>
- [27]. M.K. Soyly, Z. Nur, B. Ustuner, I. Dogan, H. Sagirkaya, U. Gunay, K. Ak (2007) Effects of various cryoprotective agents and extender osmolality on post-thaw ram semen. *Bull Vet Inst Pulawy* 51: 241-246

URL: [https://www.researchgate.net/profile/Ibrahim-Dogan-7/publication/239553245\\_Effects\\_of\\_various\\_cryoprotective\\_agents\\_and\\_extender\\_osmolality\\_on\\_post-thawed\\_ram\\_semen/links/5e2a9a754585150ee77e02aa/Effects-of-various-cryoprotective-agents-and-extender-osmolality-on-post-thawed-ram-semen.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ibrahim-Dogan-7/publication/239553245_Effects_of_various_cryoprotective_agents_and_extender_osmolality_on_post-thawed_ram_semen/links/5e2a9a754585150ee77e02aa/Effects-of-various-cryoprotective-agents-and-extender-osmolality-on-post-thawed-ram-semen.pdf) Letöltés dátuma: 2022.11.16

- [28]. David, I., Kohnke, P., Lagriffoul, G., Praud, O., Plouarboué, F., Degond, P., Druart, X. (2015). Mass sperm motility is associated with fertility in sheep. *Animal reproduction science*, 161: 75-81.  
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.08.006>
- [29]. Mostafapor, S., Ardebili, F. F. (2014). Effects of diluting medium and holding time on sperm motility analysis by CASA in ram. In *Veterinary research forum: an international quarterly journal* 5(2) 101.  
PMID: 25568702, PMCID: PMC4279634
- [30]. Rupert P. Amann, Dagmar Waberski,(2014) Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments, *Theriogenology*, 81: 5-17  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.004>.
- [31]. D.E Kime, K.J.W Van Look, B.G McAllister, G Huyskens, E Rurangwa, F Ollevier,(2001) Computer-assisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130(4): 425-433  
[https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00270-8](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00270-8).
- [32]. Amelar, Richard D., Lawrence Dubin, and C. Schoenfeld (1980) Sperm motility. *Fertility and Sterility* 34  
[https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)44949-6](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)44949-6)
- [33]. Tatone, C., Di Emidio, G., Vento, M., Ciriminna, R., Artini, P. G. (2010) Cryopreservation and oxidative stress in reproductive cells. *Gynecological endocrinology* 26(8): 563-567.  
<https://doi.org/10.3109/09513591003686395>
- [34]. Ward, A., Clissold, S.P (1987) Pentoxifilline. *Drugs* 34, 50–97  
<https://doi.org/10.2165/00003495-198734010-00003>
- [35]. M Zhang, Y-J Xu, SA Mengi, AS Arneja, NS Dhalla. (2004) Therapeutic potentials of pentoxifilline for treatment of cardiovascular diseases. *Exp Clin Cardiol* 9(2):103-111.  
PMID: 19641695
- [36]. C. P. Samlaska, EA. Winfield (1994) Pentoxifilline *Journal of the American Academy of Dermatology* 30: 603- 621  
[https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(94\)70069-9](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(94)70069-9)
- [37]. McCarty MF, O’Keefe JH, DiNicolantonio JJ.(2016) Pentoxifilline for vascular health: a brief review of the literature. *Open Heart* 3(1), e000365  
<http://dx.doi.org/10.1136/openhrt-2015-000365>
- [38]. Prasad K, Lee P.(2007) Suppression of hypercholesterolemic atherosclerosis by pentoxifilline and its mechanism. *Atherosclerosis*. 192: 313–22.  
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2006.07.034>
- [39]. Bruyazeel I, Van der Raaji L.M., Stoof T.J., Willemze R. (1995) Pentoxifilline Inhibits T-Cell Adherence to Keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology*. 104: 1004-1007.  
<https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12606239>

- [40]. Windmeier, C., Gressner, A. M. (1997) Pharmacological aspects of pentoxifilline with emphasis on its inhibitory actions on hepatic fibrogenesis. *General Pharmacology: The Vascular System*. 29(2): 181-196.  
[https://doi.org/10.1016/S0306-3623\(96\)00314-X](https://doi.org/10.1016/S0306-3623(96)00314-X)
- [41]. Singh, S. K., Dimri, U., Saxena, S. K., Jadhav, R. K. (2010) Therapeutic management of canine atopic dermatitis by combination of pentoxifilline and PUFAs. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 33(5), 495-498.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2009.01146.x>
- [42]. Marks S., Merchant S., Foil C. (2001) Pentoxifilline: wonder drug? *J Am Anim Hosp Assoc* 37 (3): 218-219.  
<https://doi.org/10.5326/15473317-37-3-218>
- [43]. N. Kabbesh, M. Gogny, G. Chatagnon, J. Noireaud, C. Thorin, J.-C. Desfontis, M.Y. Mallem. (2012) Vasodilatory effect of pentoxifilline in isolated equine digital veins. *The Veterinary Journal*. 192: 368-373.  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.09.005>
- [44]. M.A. Pozor, J. Muehlhaus, A. King, M.L. Macpherson, M. H. Troedsson, C. S. Bailey. (2011) Effect of pentoxifilline treatment on testicular perfusion and semen quality in Miniature horse stallions. *Theriogenology*. 76: 1027-1035  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.05.005>
- [45]. Critser, J. K., Arneson, B. W., Aaker, D. V., Huse-Benda, A. R., Ball, G. D. (1987) Cryopreservation of human spermatozoa. II. Postthaw chronology of motility and of zona-free hamster ova penetration. *Fertility and Sterility*, 47(6): 980-984.  
[https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)59233-4](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)59233-4)
- [46]. Nassar, A., Mahony, M., Morshedi, M., Lin, M. H., Srisombut, C., Oehninger, S. (1999) Modulation of sperm tail protein tyrosine phosphorylation by pentoxifilline and its correlation with hyperactivated motility. *Fertility and sterility*. 71(5): 919-923.  
[https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(99\)00013-8](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(99)00013-8)
- [47]. Lefièvre, L., Jha, K. N. de Lamirande, E., Visconti, P. E. Gagnon, C. (2002) Activation of protein kinase a during human sperm capacitation and acrosome reaction. *Journal of andrology*. 23 (5). 709-716.  
<https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2002.tb02314.x>
- [48]. Balbach, M., Beckert, V., Hansen, J. N., Wachten D.(2018) Shedding light on the role of cAMP in mammalian sperm physiology. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 468: 111-120  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.11.008>
- [49]. Naz, R. K., Rajesh, P. B.(2004) Role of tyrosine phosphorylation in sperm capacitation/acrosome reaction. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2(1), 1-12.  
<https://doi.org/10.1186/1477-7827-2-75>
- [50]. Banihani, S. A., Abu-Alhayjaa, R. F. (2016) The activity of seminal creatine kinase is increased in the presence of pentoxifilline. *Andrologia*, 48(5): 603-604.  
<https://doi.org/10.1111/and.12486>
- [51]. Banihani S. A., Abu-Alhayjaa R. F., Amarin Z..O., Alzoubi K. H. (2018) Pentoxifilline increases the level of nitric oxide produced by human spermatozoa. *Andrologia*. 50(2)  
<https://doi.org/10.1111/and.12859>
- [52]. Kovačić B., Vlaisavljević V., Reljić M. (2006) Clinical use of pentoxifilline for activation of immotile testicular sperm before ICSI in patients with azoospermia. *Journal*

of andrology. 27(1): 45-52.

<https://doi.org/10.2164/jandrol.05079>

- [53]. Nabi A., Khalili M. A., Fesahat F., Talebi A. (2017) Pentoxifilline increase sperm motility in devitrified spermatozoa from asthenozoospermic patient without damage chromatin and DNA integrity. *Cryobiology*, 76:59-64.  
<https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2017.04.008>
- [54]. Mirshokraei P., Hassanpour H., Mehdizadeh A., Taheri M. A. (2011) Pentoxifilline induces capacitation and acrosome reaction and improves quality of motility in canine ejaculated spermatozoa. *Research in veterinary science*, 91(2) 281-284.  
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.01.002>
- [55]. Gradil C. M., Ball B. A. (2000) The use of pentoxifilline to improve motility of cryopreserved equine spermatozoa. *Theriogenology*. 54(7):1041-1047.  
[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00412-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00412-X)
- [56]. Barakat I. A., Danfour M. A., Galewan F. A., Dkhil M. A. (2015) Effect of various concentrations of caffeine, pentoxifilline, and kallikrein on hyperactivation of frozen bovine semen. *BioMed research international*,  
<https://doi.org/10.1155/2015/948575>
- [57]. Maxwell W.M., Robinson S.J., Roca J., Molinia F.C., Sanchez-Partida L.G., Evans G., (1995) Motility, acrosome integrity and fertility of frozen ram spermatozoa treated with caffeine, pentoxifilline, cAMP, 2-deoxyadenosine and kallikrein. *Reproduction, Fertility and Development*. 7(5): 1081-1087 <https://doi.org/10.1071/RD9951081>



## 8 Nyilatkozatok

HuVetA

### ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT\*

Név: ...GOMBÁR ZSAKLIN.....  
Elérhetőség (e-mail cím): ...gombarszaklin@gmail.com.....  
A feltöltendő mű címe: ...PENTOXIFILLIN HATÁSA FAGYASZTOTT KOSSPERMA MOTILITÁSÁRA.....  
A mű megjelenési adatai: ...DIPLOMAMUNKA 2022.....  
Az átadott fájlok száma: ...1.....

---

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatssa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (**egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel**):

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címekre) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:**



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetÁ-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénysértő módon visszaélne.

Budapest, 2022. év .....11.....hó .....16.....nap

*Gombár Zsolt*

alíírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

---

*A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutjra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásanyagát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.*

*A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén*

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásanyagának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*



## Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: Gombár Zsoltin.....

Neptun-kódja: 111631KA.....

A témavezető neve és beosztása: dr. Csoprogly Anna, klinikai állatorvos.....

Tanszék: Szülészeti Tanszék és Haszonállat-gyógyászati Klinika.....

A diplomadolgozat címe: Pentoxifillin hatása fagyasztott kósporma motilitására.....

## Konzultáció - 1. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2022	02.	10.	Téma egyeztetése	[Signature]
2.	2022	03.	21.	irodalmi konzultáció	[Signature]
3.	2022	04.	05.	Műhelytan, konzultáció	[Signature]
4.	2022	05.	27.	Asszisztált reprodukció exp. kísérlet	[Signature]
5.					

Érdemjegy az első félév végén: Jelölés (5).....

## Konzultáció - 2. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2022	09.	22.	Dolgozat revízió	[Signature]
2.	2022	10.	10.	Dolgozat revízió	[Signature]
3.	2022	11.	17.	Dolgozat revízió	[Signature]
4.					
5.					

Érdemjegy a második félév végén: Jelölés (4).....

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!





A diplomamunka - a szakra vonatkozóan - a Tanulmányi- és Vizsgaszabályzatban, valamint az Útmutató a szakdolgozatok/diplomamunkák készítéséhez című mellékletében leírt követelményeknek megfelel.

A diplomamunka befogadható, védeésre alkalmasnak találtam.

Hallgató aláírása: *Szabolcs Balázs*

*[Signature]*  
Tanszékvezető aláírása

Tanszéki előadó aláírása: *Tóth* Átvétel dátuma: .....