

University of Szeged
Albert Szentgyörgyi Medical and Pharmaceutical Center

Program director: Prof. Dr. György Bártfai, MD, PhD, DSc
Tutor: Prof. Dr. János Szöllősi, MD, PhD

Efficiency of intracytoplasmic sperm injection and related micromanipulation techniques in
the treatment of male factor infertility

Summary of Ph.D. thesis

Szabolcs Mátyás
Kaáli Institute, Budapest

2009

Bevezetés

A Központi Statisztikai Hivatal (KSH) adatai szerint Magyarország lakossága folyamatosan csökken. Ennek fő oka az elveszületések számának csökkenése. Másrészt a meddőség gyakorisága Nyugat Európához és az Amerikai Egyesült Államokhoz hasonlóan nő (a lakosság 15-20 %-a). Régebben a meddőséget női problémának tekintették, napjainkban viszont jól ismert hogy 30%-ban kizárólag férfieredetű problémáról beszélhetünk. A budapesti Kaáli Intézet 2007-es adatai alapján az elvégzett 1741 in vitro fertilizációs (IVF) kezelés 33 %-a férfi eredetű, 36 %-a női eredetű, 17 % kevert eredetű (férfi és női) és 17 %-a ismeretlen eredetű meddőség miatt történt.

Férfi eredetű meddőség esetén általában alacsony spermiumkoncentráció (oligozoospermia), gyenge motilitás (asthenozoospermia) vagy abnormális szerkezetű spermiumok magas aránya (teratozoospermia) áll a nemzőképtelenség hátterében. Ide sorolhatók azok az esetek is, ahol normális spermatogenezis ellenére sem jön létre megtermékenyülés a reproduktív traktus elzáródása, ejakulációs zavarok, illetve a spermiumok zona pellucidához vagy oolemmához történő kapcsolódásának elmaradása miatt. A nemzőképtelen férfiak kivizsgálása több lépésben történik. A kórelőzmény felállítása mellett fizikai vizsgálat, ismételt spermavizsgálat és hormonális kivizsgálás is része a folyamatnak. Súlyos oligozoospermia (5×10^6 spermium/ml) és azoospermia esetén indokolt genetikai vizsgálat (kariotipizálás, Y kromoszóma mikrodeleció kimutatása) elvégzése is. Azoospermias férfiaknál fontos megállapítani az eltérés okát. Obstruktív azoospermia esetén a spermatogenezis többnyire befejezett és a spermiumok általában mozgásképesek. Nem obstruktív azoospermia viszont a spermatogenezis teljes vagy részleges hiányát jelenti.

Több, mint harminc év telt el az első sikeres lombikbébi kezelés óta. Az első időszakában az azoospermias és súlyos oligozoospermias férfiaknak gyakorlatilag nem volt lehetősége genetikailag saját utód vállalására. Az intracitoplazmatikus spermium injekció (ICSI) bevezetése 1992-ben jelentős előrelépést jelentett a férfieredetű meddőség kezelésében. Alkalmazásával lehetőség nyílt arra, hogy akár néhány spermium esetén is elvégezhető legyen a petesejtek megtermékenyítése. A spermiumok származhatnak a mellékheréből vagy heréből is, ráadásul mozdulatlan spermiumokkal vagy kerek spermatidával is eredményes lehet az eljárás. Magyarországon a budapesti Kaáli Intézetben alkalmaztuk először az eljárást 1994-ben. Herebiopsziából származó tesztikuláris spermiumokkal pedig 1995-ben végeztük el az első beavatkozást. A következő években fagyasztott tesztikuláris spermiumokkal, mozdulatlan spermiumokkal és kerek spermatidával is sikeresen termékenyítettünk petesejteket. A intracitoplazmatikus spermium injekciót és a hasonló technikákat a sikerek ellenére is sok kritika érte az évek során. Az egyik leggyakrabban hangoztatott kifogás a módszer ellen a természetes spermiumszelekció elmardása volt, ami miatt kimarad a megtermékenyülés folyamatának több fontos lépése (a spermiumok nem kapcsolódnak a zona pellucidához és az oolemmához a megtermékenyítés folyamata során). Hagyományosan szerkezeti és lehetőség szerint mozgási tulajdonságaik alapján választják ki a spermiumokat az injektáláshoz. Az utóbbi évek kutatási eredményei igazolták, hogy a spermiumok hialuronsavkötő képessége egy sor fontos biokémiai tulajdonságukkal szoros kapcsolatban áll. A spermiumok hialuronsavkötő képességén alapuló szelekciós módszer (PICSI, Petri Dish ICSI) újabb lehetőséget jelent az ICSI módszer további finomításában. Ezt a módszert először 2007-ben alkalmaztuk intézetünkben. A hatékonyság növelése érdekében fontos megvizsgálni, hogy milyen tényezők befolyásolják legjobban az említett mikromanipulációs módszerek eredményességét a férfieredetű meddőség különböző formáinak kezelésében.

Célkitűzések

Vizsgálataim során a következő kérdésekre kerestem választ:

A meddőség típusának vonatkozásában

- A férfi eredetű meddőség típusa befolyásolja-e az intracitoplazmatikus spermium injekció és egyéb mikromanipulációs eljárások hatékonyságát?
- Milyen mértékben befolyásolják a női faktorok az eredményességet kevert (férfi és női) eredetű meddőség esetében?
- Mennyire eredményes az intracitoplazmatikus spermium injekció obstruktív és nem obstruktív azoospermia kezelése esetén?

A megtermékenyítéshez felhasznált hímivarsejtek vonatkozásában

- A spermiumkoncentráció, a motilitás és a morfológia milyen mértékben befolyásolja az ICSI módszer hatékonyságát?
- Mennyire hatékony az alkalmazott technika friss és mélyfagyasztott hímivarsejtek vonatkozásában?
- Mennyire hatékony az alkalmazott technika tesztikuláris spermiumok vonatkozásában?
- Mennyire hatékony az alkalmazott technika kerek spermátida és elongált spermátida injektálása esetén?

Az alkalmazott technika vonatkozásában

- Mennyire hatékony az intracitoplazmatikus spermiuminjekció (ICSI)?
- Mennyire hatékony kerek spermátida (ROSI) és elongált spermátida (ELSI) intracitoplazmatikus injektálása?
- Hatékonyabbá tehető-e az eljárás a spermiumok hialuronsavkötő képességén alapuló szelekciós módszer (PICSI) alkalmazásával?
- Az eredmények alapján milyen technikai lehetőségeket érdemes figyelembe venni a mikromanipulációs eljárások hatékonyságának további növelése érdekében?

Anyag és módszer

A budapesti Kaáli Intézetben 2000-2008 között végzett IVF kezelések retrospektív (ICSI, ROSI) és prospektív (ICSI, ROSI, PICSII) vizsgálatát végeztem el az alábbi csoportokban.

1. ICSI alkalmazása friss ejakulált spermiumokkal végzett megtermékenyítés során kevert (férfi és női) eredetű meddőség esetében
2. ICSI alkalmazása friss ejakulált spermiumokkal végzett megtermékenyítés során férfieredetű meddőség esetében (az asszonyok életkora max. 37 év, normális alap FSH és LH értékek, minimum 5 érett petesejt a megtermékenyítés időpontjában)
3. ICSI alkalmazása mélyfagyasztott ejakulált spermiumokkal végzett megtermékenyítés során (cryoICSI)
4. ICSI alkalmazása friss tesztikuláris spermiumokkal végzett megtermékenyítés során (TESE+ICSI)
 - a. obstruktív azoospermia estében
 - b. nem obstruktív azoospermia esetében
5. ICSI alkalmazása mélyfagyasztott tesztikuláris spermiumokkal végzett megtermékenyítés során (cryoTESE+ICSI)
6. Kerek spermátida (ROSI) és elongált spermátida (ELSI) injektálása
7. PICSII módszer alkalmazása

A következő tényezők hatását vizsgáltam az eredményesség szempontjából: apai és anyai életkor, alap FSH szint, az IVF ciklus sorszáma, petesejtek száma, fertilizációs ráta érett (MII.) petesejtre számítva, jó szerkezetű preembriók aránya, összes és jó szerkezetű preembriók száma, visszaültetésre került összes és jó szerkezetű preembriók száma, az embriótranszfer (ET) napja, endometrium vastagsága, lézer asszisztált hatching (LAH) alkalmazása, spermáparaméterek (ahol ez lehetséges volt: 1., 2., 6. csoport), az azoospermia típusa (4. csoport), spermiumok motilitása (5. csoport), klinikai terhességi ráta.

Az IVF ciklusok során a hormonális stimuláció a szakmai protokolloknak megfelelően (GnRH agonista long vagy ultrashort protokoll, CC, GnRh antagonisták) történt. A folliculusok fejlődését transzvaginális ultrahangos vizsgálattal és a szérum ösztadiol- és progeszteron-szintjének meghatározásával követtük nyomon. Az ovulációt 5-10.000 NE hCG beadásával indukáltuk. A transzvaginális folliculus-aspirációt intravénás narkózis alkalmazása mellett végeztük. A petesejtek, spermiumok és preembriók feldolgozása és tenyésztése során a Vitrolife cég (Svédország) G táptalajszorozatát használtuk. A spermiumok feldolgozása a spermáparaméterektől függően sűrűséggradiens centrifugálással, felúsztatással vagy egyszerű mosással történt. A spermiumok, elongált és kerek spermátidák injektálása a szakirodalomban leírt módszerrel történt. Az injektáláshoz a Humagen cég (USA) és a Swemed cég (Svédország) mikropipettáit használtuk. PICSII módszer alkalmazásánál a Midatlantic cég (USA) PICSII edényét használtuk a spermiumok hialuronsavkötő képességén alapuló szelektálásához. Az embriók beültetése (ET) a harmadik vagy ötödik napon történt. Lézer asszisztált hatchinget (LAH) harmadik napon végzett ET esetén alkalmaztunk a következő indikációk alapján: anyai életkor (min. 35 év), emelkedett alap FSH-szint (min. 10 mIU/ml) és/vagy min. két sikertelen IVF ciklus. Az eljáráshoz a Hamilton-Thorne cég ZLTSII. típusú nem kontakt lézerberendezését alkalmaztuk. Az embrió transzfer során a Wallace cég (Anglia) katétere segítségével juttattuk a preembriókat a méhüregbe. A statisztikai elemzések során kategóriális változók közötti kapcsolat vizsgálatához χ^2 -próbát, folytonos mérési szintű változók átlagainak összehasonlításához pedig t-próbát alkalmaztam. Szignifikáns

eltérésnek a $P < 0,05$ értéket tekintettem. A statisztikai elemzéshez a SAS cég (USA) Statview Version 5.0 programját használtam

Eredmények

1. ICSI alkalmazása friss ejakulált spermiumokkal végzett megtermékenyítés során kevert (férfi és női) eredetű meddőség esetében

128 IVF ciklus adatait elemeztem, melynek során 668 MII. petesejtet injektáltunk. Az asszonyok átlagéletkora 34,8 év, az átlagos ciklusszám 2,0, az alap FSH és LH érték pedig 10,3 mIU/l és 7,2 mIU/l voltak. 125 ET során összesen 302 embriót (átlag: 2,42) ültettünk vissza. A fertilizációs ráta érett (MII.) petesejtre számítva 88,2 %, a jó szerkezetű preembriók aránya 69,2 %, a klinikai terhességi ráta ET-re számítva pedig 31,2 % volt. A vizsgált spermiumparaméterek (koncentráció, motilitás, normál morfológia) közül a legalacsonyabb (1-100 spermium/minta) és a magasabb (10-14 M/ml és 20 millió/ml) spermiumkoncentrációval jellemezhető csoportok között lehetett szignifikáns különbséget kimutatni a fertilizációs ráta vonatkozásában. Az emelkedett anyai életkor negatív hatással volt a petesejtek számára és minőségére, a fertilizációs rátára és a jó szerkezetű preembriók arányára.

2. ICSI alkalmazása friss ejakulált spermiumokkal végzett megtermékenyítés során férfieredetű meddőség esetében (az asszonyok életkora max. 37 év, normális alap FSH és LH értékek, min. 5 érett petesejt a megtermékenyítés időpontjában)

205 IVF ciklus adatait elemeztem, melynek során 1785 MII. petesejtet injektáltunk. Az asszonyok átlagéletkora 31,9 év, az átlagos ciklusszám 2,0, az alap FSH és LH érték pedig 7,1 mIU/l és 6,2 mIU/l voltak. 249 ET során összesen 605 embriót (átlag: 2,43) ültettünk vissza. A fertilizációs ráta érett (MII.) petesejtre számítva 87,2 %, a jó szerkezetű preembriók aránya 68,1 %, a klinikai terhességi ráta ET-re számítva pedig 41,4 % volt. vizsgált spermiumparaméterek (koncentráció, motilitás, normál morfológia) közül a legalacsonyabb (1-100 spermium/minta) és a két legmagasabb (10-14 M/ml és 20 millió/ml) spermiumkoncentrációval jellemezhető csoport között lehetett szignifikáns különbséget kimutatni a fertilizációs ráta vonatkozásában.

3. ICSI alkalmazása mélyfagyasztott ejakulált spermiumokkal végzett megtermékenyítés során

86 IVF ciklus adatait elemeztem, melynek során 546 MII. petesejtet injektáltunk. Az asszonyok átlagéletkora 32,5 év, az átlagos ciklusszám 2,1, az alap FSH és LH érték pedig 7,8 mIU/l és 5,7 mIU/l voltak. 82 ET során összesen 194 embriót (átlag: 2,36) ültettünk vissza. A fertilizációs ráta érett (MII.) petesejtre számítva 77,8 %, a jó szerkezetű preembriók aránya 67,8 %, a klinikai terhességi ráta ET-re számítva pedig 19,5 % volt.

4. ICSI alkalmazása tesztikuláris spermiumokkal végzett megtermékenyítés során (TESE+ICSI)

218 IVF ciklus adatait elemeztem, melynek során 1283 MII. petesejtet injektáltunk. 101 esetben obstruktív azoospermia, 117 esetben pedig nem obstruktív azoospermia volt az indikáció. Az asszonyok átlagéletkora 29,9 és 30,0 év, az átlagos ciklusszám 2,2 és 2,4, az alap FSH értékek pedig 7,4 mIU/l és 7,6 mIU/L, az alap LH értékek pedig 6,1 mIU/l és 6,3 mIU/l voltak. 198 ET során összesen 605 embriót (átlag: 2,6 és 2,9) ültettünk vissza. A fertilizációs ráta érett (MII.) petesejtre számítva 61,1 % és 51,7 %, a jó szerkezetű preembriók aránya 57,8 % és 51,4 %, a klinikai terhességi ráta ET-re számítva pedig 29,0 % és 26,7 % volt a két csoportban. A herebiopatóumból kinyerhető spermiumok száma szignifikánsan alacsonyabb volt nem obstruktív azoospermia esetében.

5. ICSI alkalmazása mélyfagyasztott tesztikuláris spermiumokkal végzett megtermékenyítés során (cryoTESE+ICSI)

75 IVF ciklus adatait elemeztem, melynek során 546 MII. petesejtet injektáltunk. Az asszonyok átlagéletkora 30,8 év, az átlagos ciklusszám 2,1, az alap FSH és LH érték pedig 7,8 mIU/l és 5,7 mIU/l voltak. 64 ET során összesen 163 embriót (átlag: 2,6) ültettünk vissza. A fertilizációs ráta érett (MII.) petesejtre számítva 64,5 %, a jó szerkezetű preembriók aránya 54,7 %, a klinikai terhességi ráta ET-re számítva pedig 21,9 % volt. 9 ciklus során a pentoxifyllines kezelést követően is csak mozdulatlan spermiumokat tudtunk felhasználni a megtermékenyítéshez hipoozmotikus duzzasztással szelektálva azokat. Ezen ciklusok közül egyik sem végződött terhességgel.

6. Kerek spermátida (ROSI) és elongált spermátida (ELSI) injektálása

29 IVF ciklus adatait elemeztem, melynek során 124 MII. petesejtet injektáltunk kerek spermátidával (26 ciklus) és 12 MII. petesejtet elongált spermátidával (3 ciklus). Az asszonyok átlagéletkora 30,5 év, az átlagos ciklusszám 2,1, az alap FSH és LH érték pedig 6,9 mIU/l és 5,8 mIU/l voltak. 29 ET során összesen 61 embriót (átlag: 2,1) ültettünk vissza. A fertilizációs ráta érett (MII.) petesejtre számítva 51,1 %, a jó szerkezetű preembriók aránya 36,0 %, a klinikai terhességi ráta ET-re számítva pedig 10,3 % volt ROSI esetében. ELSI esetében fertilizációs ráta érett (MII.) petesejtre számítva 50,0 % volt, az embriók között egyik sem volt jó szerkezetű és terhességet sem sikerült elérnünk.

7. PICSI módszer alkalmazása

88 IVF ciklus adatait elemeztem, melynek során 582 MII. petesejtet injektáltunk. Az asszonyok átlagéletkora 35,6 év, az átlagos ciklusszám 3,7, az alap FSH és LH érték pedig 7,9 mIU/l és 6,3 mIU/l voltak. 83 ET során összesen 216 embriót (átlag: 2,6) ültettünk vissza. A fertilizációs ráta érett (MII.) petesejtre számítva 88,0 %, a jó szerkezetű preembriók aránya 79,8 %, a klinikai terhességi ráta ET-re számítva pedig 32,5 % volt.

Megbeszélés

A 2000-2008 között végzett IVF ciklusok adatainak elemzése igazolta, hogy intracitoplazmatikus spermium injekció (ICSI) és egyéb mikromanipulációs eljárások (ROSI, ELSI) alkalmazásával a férfi eredetű meddőség hatékonyan kezelhető. Az alábbi táblázatban összefoglaltam a vizsgált csoportokban elért legfontosabb eredményeket.

A vizsgált csoportokban elért eredmények

| <i>Csoport</i> | <i>n</i> | <i>Fertilizációs ráta/MII. petesejt (%)</i> | <i>Jó minőségű preembriók (%)</i> | <i>Klinikai terhességi ráta/ET (%)</i> |
|--|----------|---|---|--|
| 1. ICSI (kevert eredetű meddőség) | 128 | 88,2 | 69,5 | 31,2 |
| 2. ICSI (férfi eredetű meddőség) | 250 | 87,2 | 68,1 | 41,4 |
| 3. ICSI (fagyasztott spermium) | 86 | 77,8 | 67,5 | 19,5 |
| 4.a TESE+ICSI (obstruktív azoospermia) | 101 | 61,1 | 57,8 | 29,0 |
| 4.b TESE+ICSI (nem-obstruktív azoospermia) | 117 | 51,7 | 51,4 | 26,7 |
| 5. cryoTESE+ICSI | 75 | 64,5 | 54,7 | 21,9 |
| 6. ROSI | 29 | 37,0 | 36,0 | 10,3 |
| 7. PICSI | 88 | 88,0 | 79,8 | 32,5 |
| | | P < 0,05 | P < 0,05 | P < 0,05 |

A táblázat adatai azt mutatják, hogy érett (ejakulált) spermiumokkal (1.,2.,3.,7. csoport) szignifikánsan magasabb fertilizációs rátát lehetett elérni, mint hereszövetből származó (tesztikuláris) spermiumokkal (4., 5. csoport) vagy előalakokkal (6. csoport). Ezt a tendenciát a jó szerkezetű preembriók arányánál is meg lehetett figyelni. A terhességi ráta vonatkozásában viszont csak bizonyos csoportok között volt szignifikáns különbség. Érett spermiumok injektálása esetén fagyasztott mintákkal (3. csoport) szignifikánsan alacsonyabb fertilizációs és klinikai terhességi rátát értünk el, mint friss mintákkal (1.,2.,7. csoport). Meg kell jegyezni, hogy a fagyasztott minták jelentős részét másik intézetekből szállították át. Ezeknél a mintáknál gyakran tapasztaltuk, hogy a fagyasztás és tárolás nem megfelelő módon történt, ami magyarázza a gyengébb eredményeket. Érdekes módon fagyasztott tesztikuláris spermiumokkal (5. csoport) magasabb fertilizációs rátát értünk el friss tesztikuláris spermiumokhoz (4. csoport) képest.

Az anyai életkor hatását az 1. és 2. csoport összehasonlításával kívántam bemutatni, ami a terhességi ráták közötti különbségben egyértelműen meg is mutatkozott. A 2. csoportban elért 10 %-al magasabb terhességi ráta egyértelműen bizonyítja az emelkedett női életkor negatív hatását. Az apai életkor negatív hatását egyik csoportban sem sikerült kimutatni. Az utóbbi néhány évben megjelent tudományos közleményekben azonban az apai életkorral kapcsolatban is kimutattak hasonló tendenciát intrauterin inszemináció és donor petesejtekkel végzett IVF beavatkozások esetében.

A spermaparéterek hatását csak az 1., 2. és 7. csoportban tudtam vizsgálni. Az 1. és 2. csoportban nagyon alacsony spermiumkoncentráció (1-100 spermium/minta) esetében

szignifikánsan alacsonyabb fertilizációs rátát lehetett elérni a magasabb spermiumkoncentrációjú (10 M/ml feletti) csoportokhoz képest. A 2. csoportban (kizárólag férfi eredetű meddőség) a jó szerkezetű preembriók aránya is szignifikánsan alacsonyabb volt nagyon alacsony spermiumkoncentráció mellett. Motilitás és normál morfológia vonatkozásában hasonló tendenciát nem sikerült kimutatnom. A 7. csoportban (PICSI) egyik spermaparaméterrel kapcsolatban sem lehetett megfigyelni hasonló hatásokat. Meg kell azonban jegyezni, hogy a PICSI módszert alacsony spermiumkoncentráció és/vagy gyenge motilitás esetén nem lehet alkalmazni. A szuboptimális spermatogenezis negatív hatása tehát nagyon alacsony spermiumkoncentrációnál ICSI esetében is kimutatható, annak ellenére hogy ezeknél a ciklusoknál gyakorlatilag csak annyi normális szerkezetű, életképes spermiumra van szükség ahány petesejtet meg kell termékenyíteni. Az előalakokkal (kerek spermatida, elongált spermatida) végzett megtermékenyítés minden szempontból gyengébb hatásfokkal működött. Az eredményesség növelése szempontjából mindenképpen arra kell törekedni, hogy minél érettebb ivarsejteket tudjunk injektálni. Saját tapasztalataink és a nemzetközi szakirodalomban elérhető idevonatkozó cikkek is azt mutatják hogy egy sikertelen biopszia nem zárja ki annak lehetőségét hogy a here másik részéről vett mintában spermiumot találjunk.

Lézer asszisztált hatching (LAH) alkalmazásával csak a 4. csoportban értünk el magasabb terhességi rátát. A módszer alkalmazásának indikációja legalább két sikertelen IVF ciklus, emelkedett alap FSH-szint vagy az anyai életkor (minimum 35 év) volt. Az általunk alkalmazott ZLTS-II. (Hamilton-Thorne) nem kontakt lézerberendezést kifejezetten úgy tervezték hogy semmilyen káros hőterhelés ne érje a manipulált embriókat. A zona pellucidán gyakorlatilag tetszőleges méretű lyukat lehet nyitni. Nyilvánvaló, hogy a sikertelen IVF ciklusok hátterében számos ok állhat, így LAH alkalmazásával csak akkor lehet az eredményességet növelni, ha a zona pellucida szerkezeti sajátosságai gátolják az implantációt. Ennek nem invazív vizsgálata csak az utóbbi években vált lehetővé. Sajnos az ennek vizsgálatára kidolgozott mikroszkópos rendszer (Spindlevue) rendkívül drága.

A visszaültetett preembriók száma és minősége gyakorlatilag minden csoportban jelentősen befolyásolta a klinikai terhességi rátát. A többes terhességek előfordulása gyakoribb volt azokban a ciklusokban, amikor három vagy kivételes esetben négy preembrió transzferáltunk. Meg kell jegyezni, hogy ezeknél a ciklusonál több sikertelen IVF beavatkozás, illetve az emelkedett anyai életkor miatt történt több preembrió beültetése. Az eredmények viszont azt mutatják, hogy ezekben az esetekben is elég lenne a két legjobb minőségű preembrió visszaültetni. Az utóbbi években a blasztociszta tenyésztés és az embriószelektációs módszerek fejlesztésében elért eredmények is indokolják a kevesebb preembrió visszaültetését az IVF ciklusok jelentős részében.

Összefoglalva 874 IVF-ET ciklus adatait, az intracitoplazmatikus spermium injekció és egyéb mikromanipulációs eljárások alkalmazásával a férfieredetű meddőség különböző formái hatékonyan kezelhetők. A hatékonyságot nagymértékben befolyásolta az anyai életkor, ami elsősorban a petesejtek számában és minőségében nyilvánult meg. A megtermékenyítés eredményességére hatással volt a spermiumok érettsége és a felhasznált minta friss vagy fagyasztott jellege. A spermiumok hialuronsavkötő képességén alapuló szelektációs módszer (PICSI) alkalmazásával olyan ciklusok során is magas fertilizációs rátát és a jó szerkezetű preembriók magasabb arányát lehetett elérni, ahol hagyományos ICSI-vel ez korábban nem volt lehetséges. A PICSI eljárást viszont jelenlegi formájában nem lehet alkalmazni a leggyengébb minőségű minták esetében, ahol vizsgálataim alapján kimutatható volt az alacsony spermiumszám negatív hatása a ciklusok eredményességére. Technikai oldalról az eredményesség növelését a fagyasztási technikák tökéletesítésével és olyan spermiumszelektációs módszer kidolgozásával lehetne elérni, amelyik alkalmazható lenne alacsony spermiumszám és gyenge motilitás esetén is.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni Prof.Dr. Szöllösi Jánosnak, Prof. Dr. Kovács Lászlónak és Prof. Dr. Bártfai Györgynek a munkám sikeres elvégzéséhez nyújtott segítségükért. Külön köszönettel tartozom Prof.Dr. Papp Györgynek, aki pályafutásom során a kezdetektől egyengette utamat.

Szeretném megköszönni munkahelyem korábbi és jelenlegi vezetőinek, Prof.Dr. Gáti Istvánnak, Prof.Dr. Kaáli Gézának és Prof.Dr. Bernard Artúrnak a napi klinikai és tudományos munkában nyújtott segítségét. Külön köszönöm az intézet orvosigazgatójának, Dr. Kovács Péternek a tudományos közlemények megírásában és szakmai kérdésekben nyújtott nagyvonalú segítségét.

Külön köszönettel tartozom Dr. Pribenszky Csabának az értekezés megírásában és közös kutatásainkban nyújtott önzetlen segítségéért. Kritikus észrevételeivel sokat segített a logikusabb szerkezet kialakításában.

Szeretném megköszönni Dr. Balogh Istvánnak a spermium mélyfagyasztási módszerek fejlesztésében nyújtott szakmai segítségét.

Külön köszönettel tartozom Rajczy Klárának, akinek értő szakmai irányítása alatt indult pályafutásom a budapesti Kaáli Intézetben, és akire mindig számíthattam ha segísége volt szükségem. Szeretném megköszönni Monár Katalinnak is önzetlen segítségét, amivel nagyban hozzájárult ahhoz, hogy az értekezést a napi munka mellett meg tudjam írni. Szeretném megköszönni minden munkatársamnak a napi munkában nyújtott segítséget.

Szeretném megköszönni szüleimnek és húgomnak a sok szeretetet és önzetlen támogatást, amit egész életemben kaptam tőlük.

Végül, de nem utolsósorban szeretném megköszönni feleségemnek és gyerekeimnek, hogy lehetővé tették munkám elvégzését. Remélem kárpótolni tudom őket azért az időért, amit nagyrészt tőlük raboltam el az értekezés megírása során.

Az értekezés témaköréhez tartozó saját közlemények és absztraktok

Bernard A., **Mátyás Sz.**, Rajczy K., Obruca A., Kaali SG., Feichtinger W. Erste erfahrungen mit „assisted Hatching” in Ungarn. J Fertil Reprod 1996:2: abstract.

Mátyás Sz., Rajczy K., Korponai E., Bernard A., Gáti I., Kaáli S.G. Az asszisztált hatching alkalmazásával szerzett hazai tapasztalataink. Magy Nőorv L 60:171:1997.

Rajczy K., Papp Gy., Bernard A., **Mátyás Sz.**, Kaali SG. Terhesség és szülés hereszövetből nyert spermiumok petesejtekbe történő injekcióját követően. Magy Nőorv L 62:161-162:1997.

Bernard A., Molnár G.B., Rajczy K., **Mátyás Sz.**, Krizsa F., Kováts T., Kulin S., Menyhárt R., Papp Gy., Feichtinger W., Gáti I., Kaáli S.G. In vitro fertilizációval szerzett tapasztalataink és eredményeink. Magy Nőorv L 61:183:1998.

Mátyás Sz., Rajczy K., Bernard A., Krizsa F., Kováts T., Kulin S., Menyhárt R., Gáti I., Kaáli S.G. Szülés mélyfagyasztva tárolt preembriók beültetését követően. Orv Hetil 4:187:1999.

Mátyás Sz., Rajczy K., Balogh I., Papp Gy., Bernard A., Gáti I., Kaáli S.G. Mozdulatlan spermiumokkal történt megtermékenyítés "hypoozmotikus swelling"-teszt segítségével végzett spermiumszelekciót követően. Magy Androl 1:17:2000.

Rajczy K., **Mátyás Sz.**, Papp Gy., Gáti I., Kaáli S.G. SQA-II. automata spermaanalizátorral szerzett tapasztalataink. Magy Androl 1:22:2000.

Mátyás Sz., Krizsa F., Rajczy K., Papp Gy., Bernard A., Gáti I., Kaáli S.G. Megtermékenyítés herebiopsziából származó mélyfagyasztott spermiumok intracitoplazmatikus spermiuminjekciójával. Magy Androl 2:53:2000.

Balogh I., **Mátyás Sz.**, Papp Gy., Kopa Zs. Egy korszerű spermabank működése. Magy Androl 2:57:2000.

Mátyás Sz., Rajczy K., Korponai E., Papp Gy., Bernard A., Gáti I., Kaáli S.G. Megtermékenyítés kerek spermatida intracitoplazmatikus injektálásával. Magy Androl: 3:53:2000.

Mátyás Sz., Rajczy K., Bernard A., Krizsa F., Kováts T., Kulin S., Menyhárt R., Gáti I., Kaáli S.G. In vitro blasztociszta tenyésztéssel szerzett tapasztalataink. Magy Nőorv Lap 63:435:2000.

Balogh I., **Mátyás Sz.**, Papp Gy. A spermium mélyfagyasztás technikai kérdései. Magy Androl 1:54:2001.

Balogh I., Papp Gy., Kopa Zs., Erdei E., **Mátyás Sz.**: A donorprogram tapasztalatai. Magy Androl 3:51:2001.

Mátyás Sz., Rajczy K., Papp Gy., Bernard A., Korponai E., Kovács T., Krizsa F., Kulin S., Menyhárt R., Szmátóna G., Kopa Zs., Erdei E., Balogh I., Gáti I., Egyed J., Kaali SG. Five

years experiences with microinjection of testicular spermatozoa into oocytes in Hungary. *Andrologia* 34:248:2002.

Mátyás Sz., Balogh I., Papp Gy., Gáti I., Kaali SG. Különleges fagyasztási eljárások: vitrifikáció. *Magy Androl* 3;77:2002.

Balogh I., **Mátyás Sz.**, Papp Gy. A krioprezerváció elmélete és gyakorlati megvalósításai. *Magy Androl* 3;86:2002.

P. Kovacs, **Sz. Matyas**, K. Boda, S.G. Kaali. The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. *Hum Reprod.* 18;2337:2003.

Kónya M., **Mátyás Sz.**, Balogh I., Kurcsics J., Papp Gy., Kováts T., Rajczy K., Bernard A., Kovács P., Krizsa F., Szmátóna G., Gáti I., Kaali SG., Szentirmay Z. Y-kromoszóma mikrodéláció kimutatásának és kariotípus meghatározásának jelentősége azoospermiás és oligozoospermiás férfiaknál. *Magy Androl* 1;21:2003.

Balogh I., Papp Gy., Erdei E., Kopa Zs., Albert I., **Mátyás Sz.** Daganatos betegek krioprezervációjának tapasztalatai a KRIO Intézetben 1999-2002. között. *Magy Androl* 2;59:2003.

P. Kovacs, **Sz. Matyas**, A. Bernard, S.G. Kaali. Comparison of clinical outcome and costs with CC + gonadotropins and GnRH α + gonadotropins during IVF/ICSI cycles. *Journal of Assist Reprod and Genet.* 6;197:2004.

Mátyás Sz., Papp Gy., Balogh I., Rajczy K., Bernard A., Kováts T., Kovács P., Krizsa F., Szmátóna G., Bekes A., Palásti M., Spröber P., Szabó Cs., Kopa Zs., Erdei E., Egyed J., Gáti I., Kaali S.G. Terhességi eredményeink hereszövetből származó mélyfagyasztott spermiumok felhasználásával. *Magy Androl* 1;7:2004.

Mátyás Sz., Révész Cs., Balogh I., Papp Gy., Forgács Zs., Rajczy K., Spröber P., Szabó Cs., Bernard A., Kopa Zs., Gáti I., Kaali SG. Humán spermiumok mitokondriális aktivitásának mérése MTT-teszt segítségével fagyasztás előtt és felengedés után. *Magy Androl* 3;79:2004.

Sz. Mátyás, Gy. Papp, P. Kovács, I. Balogh, K. Rajczy, Zs. Kopa, A. Bernard, T. Kováts, F. Krizsa, G. Szmátóna, I. Gáti, S.G. Kaali. Intracytoplasmic sperm injection with motile and immotile frozen-thawed testicular spermatozoa (the Hungarian experience). *Andrologia* 37;25:2005.

Mátyás Sz., Papp Gy., Balogh I. Herpes simplex fertőzés jelentősége az asszisztált reprodukcióban. *Magy Androl* 2;45:2005.

Balogh I., Imre E., Baksza I., Oláh Zs., Kentzler E., Erdei E., Kopa Zs., Albert I., Szabó T., **Mátyás Sz.**, Papp Gy. Ejakulátum paraméterek összehasonlító vizsgálata öt éves anyagunkban. *Magy Androl* 2;67:2005.

Mátyás Sz., Balogh I., Rajczy K., Spröber P., Bernard A., Kopa Zs., Gáti I., Kaali S.G., Papp Gy. Ondóúti gyulladások szerepe a spermafagyasztásban. *Magy Androl.* 1-2; 29:2006.

Kovács P., **Mátyás Sz.**, Kaali S.G. In vitro fertilizációt követő többesterhesség előfordulásának valószínűségét növelő körülmények. Magyar Nőorvosok Lapja 2006;69,317:2006.

Mátyás Sz., Papp Gy., Rajczy K., Szabó B., Szabó K., Bernard A., Kovács P., Kovács T., Krizsa F., Szmátóna G., Balogh I., Kopa Zs., Erdei E., Kaali S.G., Gáti I. Spermium előalakok felhasználása in vitro fertilizációs beavatkozások során. Magy Androl. 1;3:2007.

P. Kovács, **S. Mátyás**, L. Ungár. Preservation of fertility in reproductive-age women with the diagnosis of cancer. Review. Eur J Gynaec Oncol 5;425:2008.

Mátyás Sz., Rajczy K., Szabó B., Molnár K., Bekes A., Palásti M., Papp Gy. A biológus szerepe az asszisztált reprodukcióban. Magy Androl 1-2;33:2008.

Mátyás Sz., Kónya M., Kovács P., Rajczy K., Papp Gy., Bernard A., Gáti I., Kaali S.G. Terhesség és szülés FISH alkalmazásával végzett preimplantációs genetikai vizsgálat után. Magy Androl 3;59:2008.

Mátyás Sz., Rajczy K., Szabó B., Szabó K., Bernard A., Kovács P., Kovács T., Krizsa F., Szmátóna G., Papp Gy., Kaali S.G., Szöllősi J. PCSI edény alkalmazásával szerzett tapasztalataink. Magy Androl: 1;19:2009.

Kumulatív impakt faktor: 10,089

Az értekezés témaköréhez tartozó saját előadások és poszterek

Mátyás Sz., Rajczy K., Bernard A. Intracitoplazmatikus spermiuminjekció eredményességét befolyásoló tényezők férfieredetű meddőség esetén. A Magyar Nőorvos Társaság Nagygyűlése 1998, Pécs (előadás).

Mátyás Sz., Rajczy K., Balogh I., Papp Gy., Bernard A., Gáti I., Kaali S.G. Mozdulatlan spermiumokkal történt megtermékenyítés "hypoozmotikus swelling"-teszt segítségével végzett spermiumszelekciót követően. Andrológiai szimpózium 1999, Budapest (előadás).

Mátyás Sz., Balogh I., Rajczy K., Papp Gy. Tesztikuláris spermiumok mélyfagyasztása. Andrológiai szimpózium 2000, Kecskemét (előadás).

Mátyás Sz., Balogh I., Rajczy K., Bernard A., Papp Gy., Gáti I., Kaali SG. Experiences with hypoosmotic swelling test. 2nd World Congress of A PART 2000, Budapest (poszter).

Mátyás Sz., Kulin S., Bernard A., Gáti I., Kaali SG. Initial experience with blastocyst culture in Hungary. 2nd World Congress of A PART 2000, Budapest (poszter).

Balogh, **Sz. Mátyás**, Gy. Papp. Technical questions of semen cryopreservation. 2nd World Congress of A PART 2000, Budapest (poszter).

Mátyás Sz., Kulin S., Bernard A., Gáti I., Kaali SG. Initial experience with blastocyst culture in Hungary. ART and the human blastocyst 2000, Dana Lane (poszter).

Mátyás Sz. A klasszikus IVF. HIETE Orvostovábbképző Kar, Andrológiai és asszisztált reprodukciós tanfolyam 2000, Budapest (előadás).

Mátyás Sz., Rajczy K., Papp Gy., Balogh I., Bernard A., Gáti I. Megtermékenyítés kerek spermátidával. Andrológiai szimpózium 2001, Budapest (előadás).

Mátyás Sz., Kónya M, Balogh I, Rajczy K, Bernard A, Papp Gy, Gáti I, Kaali SG. Az asszisztált reprodukció genetikai vonatkozásai. Andrológiai szimpózium 2002, Sopron (előadás).

Mátyás Sz., Rajczy K., Papp Gy., Bernard A., Korponai E., Kovács T., Krizsa F., Menyhárt R., Szmátóna G., Kopa Zs., Erdei E., Balogh I., Gáti I., Kaali SG. Five years experiences with microinjection of fresh and frozen testicular spermatozoa. 4th World Congress of A PART 2002, Bécs (poszter).

Mátyás Sz., Balogh Gy., Papp Gy., Rajczy K., Gáti I., Kaali SG. Alternatív módszerek spermiumok mélyfagyasztására. Andrológiai szimpózium 2003, Zalakaros (előadás).

Mátyás Sz. A petesejtől az embrióig. Serono továbbképzés 2003, Budapest (előadás).

P. Kovacs, Sz. Matyas, S.G. Kaali The effect of endometrial thickness on IVF outcome. Controversies in Obstetrics and Gynecology, 2003, Berlin (poszter).

P. Kovács, Sz. Mátyás, S.G. Kaali. Predictors of multiple and high-order multiple gestations following IVF-ICSI/ET cycles. ASRM 2004, Philadelphia (poszter).

Mátyás Sz., Papp Gy., Balogh I., Rajczy K., Bernard A., Gáti I., Kaali SG. Megtermékenyítés a felengedést követően mozgó és mozdulatlan tesztikuláris spermiumokkal. Andrológiai szimpózium 2004, Szeged (előadás).

K. Rajczy, Sz. Mátyás, Gy. Papp, I. Balogh, A. Bernard. Schwangerschaftserfolge mit anwendung kryokonservierter aus einer hodenbiopsie gewonnener spermien. Erste Congress of DVR, 2005, Münster (poszter).

Mátyás Sz. Cryopreservation and prostate. ESAU Congress 2005, Budapest (előadás).

Mátyás Sz., Balogh I., Papp Gy., Gáti I., Kaali SG. A krioprezerváció spermiumokra gyakorolt hatása. Andrológiai szimpózium 2005, Visegrád (előadás).

P. Kovacs, Sz. Matyas. The effect of coasting on cycle outcome during IVF/ ICSI cycle in the hyper-responding patient. poster presentation at the COGI meeting, 2005, Athens (poszter).

Mátyás Sz., Balogh I., Papp Gy. Andrológiai gyulladások szerepe a krioprezervációban. Andrológiai szimpózium 2006, Debrecen (előadás).

Mátyás Sz. PICSI módszer alkalmazásával szerzett tapasztalataink. A Magyar Andrológiai Társaság I. Tudományos Ülése 2007, Siófok (előadás).

Mátyás Sz., Kónya M., Rajczy K., Kovács P., Bernard A., Papp Gy. Szülés 47, XYY kariotípus miatt végzett PGD/FISH után. A Magyar Andrológiai Társaság II. Tudományos Ülése 2008, Sopron (előadás).

Mátyás Sz., Pribenszky Cs. Stresszkezelés, mint újabb lehetőség spermiumok mélyfagyasztásában. A Magyar Andrológiai Társaság II. Tudományos Ülése 2008, Sopron (előadás).

Mátyás Sz., Rajczy K., Szabó K., Molnár K. A hagyományos fagyasztás korlátai, új lehetőségek a krioprezervációban. Embriológus Klub 2008, Budapest.

Pribenszky Cs., **Mátyás Sz.** Spermium fehérjeprofiljában létrejött szubletális stresszkezelés okozta változások indokolhatják fagyasztás/felengedést követően a spermiumok növekedett életképességét és fertilitását, sertés modellen. A Magyar Andrológiai Társaság III. Tudományos Ülése 2009, Gallyatető (előadás).

Mátyás Sz., Rajczy K., Molnár K., Szabó B., Balogh A., Zombory É., Pribenszky Cs. Az asszisztált reprodukció hatékonysága a férfi eredetű meddőség különböző formáinak kezelésében. A Magyar Andrológiai Társaság III. Tudományos Ülése 2009, Gallyatető (előadás).

Rajczy K., Kónya M., **Mátyás Sz.**, Bernard A., Kovács P., Kaali S.G., Papp Gy. Kromoszómarendellenességek előfordulása oligozoo- és azoospermiás páciensek között, terápiás lehetőségek. A Magyar Andrológiai Társaság III. Tudományos Ülése 2009, Gallyatető (előadás).

Mátyás Sz., Pribenszky Cs., Rajczy K., Molnár K., Kovács P., Zádori J., Spróber P., kaali S.G., Vajta G. Time Lapse módszer alkalmazása rutin IVF ciklusok során. Embriológus Klub 2009, Sümeg.

Kovacs P., **Matyas Sz.**, Kaali SG. Do sperm selection methods help the choice of fertilization in the case of unexplained infertility? ASRM 2009, Atlanta (poszter).