

Az intracitoplazmatikus spermiuminjekció (ICSI) és hagyományos in vitro fertilizációs (IVF) kezelések eredményeinek összehasonlítása az ondóminta minőségének függvényében



Lehner Ádám, Kaszás Zita, Murber Ákos dr., Rigó János dr. Jr., Urbancsek János dr., Fancsovits Péter dr. Semmelweis Egyetem I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika (igazgató: Rigó János dr., Jr., egyetemi tanár), Asszisztált Reprodukciós Osztály (osztályvezető: Urbancsek János dr., egyetemi tanár)

ÖSSZEFOGLALÁS

Célkitűzés: Az intracitoplazmatikus spermiuminjekciót (ICSI) eredetileg súlyos fokú andrológiai eredetű meddőség kezelésére fejlesztették ki, de alkalmazásának köre jelentősen kibővült. Tanulmányunk célja volt, hogy megvizsgáljuk, milyen esetekben érhető el hagyományos in vitro fertilizációs (IVF) kezeléssel az ICSI-hez hasonló vagy akár annál még jobb eredmények is, így csökkentve az esetleges egészségügyi kockázatokat.

Anyag és módszer: Retrospektív tanulmányunkban az elmúlt 5 év hagyományos IVF és ICSI ciklusainak adatait értékeltük. A megtermékenyítéshez használt ondómintákat 3 minőségi kategóriába soroltuk: SPI: <15 millió, SPII: 15–30 millió, SPIII: ≥30 millió progresszív spermium a natív mintában. A kezeléseket petesejtszám szerint, valamint a nőbetegek életkora szerint is csoportosítottuk, és összehasonlítottuk a kezelések kimenetelét az egyes kategóriákban.

Eredmények: A megtermékenyülési arány SPIII esetén magasabb volt IVF-et követően (66,5% vs. 58,3%; $p < 0,01$). A klinikai terhességi arány IVF-et követően magasabb volt a teljes vizsgált populációban (49,4% vs. 37,2%; $p < 0,01$), valamint az SPIII csoportban is (49,8% vs. 25,9%; $p < 0,01$).

Következtetések: A hagyományos IVF kezelés bizonyos esetekben az ICSI-nél hatékonyabban alkalmazható módszer. Jó minőségű ondóminta esetén a megtermékenyülési arány, a beültetett embriók minősége és a klinikai terhességi arány is jobb, míg közepes minőségű ondóminták esetén sem rosszabb hagyományos IVF kezelést követően, mint ICSI esetén.

KULCSSZAVAK

in vitro fertilizáció, intracitoplazmatikus spermiuminjekció, megtermékenyülés, szervezeten kívüli megtermékenyítés

Ádám Lehner, Zita Kaszás, Ákos Murber MD, Janos Rigó Jr. MD, Janos Urbancsek MD, Peter Fancsovits Ph. D.

Comparison of the efficacy of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and conventional in vitro fertilization (IVF) in terms of semen quality

ABSTRACT

Objective: Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) was originally developed to treat severe male factor infertility. Since its introduction, indications have been expanded. The aim of this study was to investigate in which cases can similar or even better results be achieved using conventional in vitro fertilization (IVF).

Materials and methods: In this retrospective study, data of conventional IVF and ICSI cycles of the last five years were analyzed. According to the total progressive sperm count, semen samples were divided into three groups (SPI: <15

million, SPII: 15–30 million, SPIII: ≥ 30 million). Cycles were also classified according to the number of oocytes and female age.

Results: Fertilization rate was superior following IVF (66.5% vs. 58.3%; $p < 0.01$) in the SPIII Group. Clinical pregnancy rate was higher following IVF not only among all cycles (49.4% vs. 37.2%; $p < 0.01$), but also in the SPIII Group (49.8% vs. 25.9%; $p < 0.01$).

Discussion: Conventional IVF can be used more effectively than ICSI in many of the cases. If semen quality is good, fertilization rate, quality of the transferred embryos and clinical pregnancy rate are higher following IVF, and even in case of moderate semen quality, these values are comparable with ICSI results.

KEY WORDS

In vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection, fertilization

BEVEZETÉS

A szervezeten kívüli megtermékenyítéssel végzett meddőségi kezelések során a petesejtek megtermékenyítésére leggyakrabban két módszert alkalmaznak. A hagyományos in vitro fertilizáció (IVF) során a feldolgozott spermaminta – mely a feldolgozás után már legnagyobb részben progresszíven mozgó spermiumokat tartalmaz – megfelelő mennyiségét a petesejtekkel közösen inkubáljuk. A másik módszer, az intracitoplazmatikus spermiuminjekció (ICSI) lényege, hogy egyetlen spermiumot mikromanipulátor segítségével injektálunk a petesejtbe. Eredetileg súlyos fokú andrológiai meddőség kezelésére fejlesztették ki [1]. Olyan esetekben is eredményesen alkalmazható, amelyekben a hagyományos IVF kezelés csak nagyon rossz hatásfokkal vagy egyáltalán nem vezet eredményre. Az ICSI csökkentheti annak esélyét, hogy a megtermékenyülés teljesen elmaradjon [2, 3, 4, 5, 6, 7], ezért végzése javasolt korábbi sikertelen hagyományos IVF kezelés esetén is.

Az intracitoplazmatikus spermiuminjekcióval végzett meddőségi kezeléseknél azonban vannak kockázatai, bár ezek mértékéről az irodalmi adatok ellentmondásosak. Egyes szerzők a fejlődési rendellenességek nagyobb kockázatáról számolnak be ICSI-t követően [8], míg mások ebből a szempontból nem találtak különbséget a két megtermékenyítési módszer kockázatai között [9, 10, 11, 12].

Bizonyosnak tűnik azonban, hogy az intracitoplazmatikus spermiuminjekcióval fogant gyermekek esetében magasabb az imprinting zavarok esélye [9], és a nemi kromoszómák de novo aberrációja is nagyobb mértékben fordul elő [9, 13]. Az sem zárható ki, hogy ICSI vagy akár hagyományos IVF kezeléssel fogant gyermekek olyan epigenetikai eltéréseket hordoznak, amelyek a korai életszakaszban még nem észlelhetők. Nehéz ugyanakkor megállapítani, hogy a fennálló egészségügyi kockázatok az alkalmazott asszisztált reprodukciós technikák következményei vagy a meddőség velejáráói [14, 15].

A spermiumok és petesejtek membránjai közötti interakciók, amelyek a természetes fogamzás vagy a hagyományos IVF kezelés során végbemennek, ICSI esetén elmaradnak [14]. Továbbá a spermiumok mikroinjekciója során idegen anyagok, például tápoldat, exogén DNS vagy fertőző ágensek juthatnak a petesejtbe [16]. További aggodalomra adhat okot az esetlegesen genetikai vagy strukturális hiányosságokkal rendelkező spermiumok injektálása [17], valamint nem szabad elfeledkeznünk arról a tényről sem, hogy az ICSI kezelés alatt az ivarsejtek hosszabb ideig vannak szuboptimális körülményeknek kitéve, mint hagyományos IVF végzése esetén.

Az intracitoplazmatikus spermiuminjekcióval kapcsolatba hozható kockázatok ellenére Európában az in vitro fertilizációs kezeléseknél átlagosan 68,4%-ban a megtermékenyítés ezzel a módszerrel történik, míg Magyarországon ez az arány 76,1% [18]. Ennek oka lehet, hogy a súlyos fokú andrológiai eredetű meddőség és a korábbi sikertelen hagyományos IVF kezeléseken túl e módszer általánosan elfogadott javallatai között szerepel a nőbetegek magas életkora, illetve a kezeléseknél nyert petesejtek alacsony száma is. Erre utalhat az a tény is, hogy az Egyesült Államokban nem andrológiai eredetű meddőség esetén az ICSI alkalmazásának aránya az 1996–2012 közötti időszakban több mint négyeszeresére, 15,4%-ról 66,9%-ra emelkedett [19].

Jelen tanulmányunk célja az, hogy megvizsgáljuk, milyen esetekben érhetőek el hagyományos IVF kezeléssel hasonló vagy akár még jobb eredmények is, mint intracitoplazmatikus spermiuminjekciót követően, így csökkentve az esetlegesen indokolatlanul végzett ICSI kezeléseknél a számát.

ANYAG ÉS MÓDSZEREK

Jelen tanulmányunkban a Semmelweis Egyetem I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika Asszisztált Reprodukciós Osztályán 2009 és 2014 augusztusa között elvégzett 1132 IVF kezelés adatait értékeltük (IVF: $n=318$, ICSI $n=814$).

retrospektív módon. Adományozott petesejtekkel vagy donor spermamintával, illetve hereszövetmintából nyert spermiumokkal végzett beavatkozások eredményei nem kerültek kiértékelésre. Az adatértékeléshez kizárólag a betegek első, illetve második IVF ciklusának adatait használtuk fel, mivel a több sikertelen kezeléssel rendelkező betegek adatai a kapott eredményeket torzíthatják.

A petefészek hormonális stimulációja

Az in vitro fertilizációs kezelést megelőzően többszörös tüszőérés céljából a petefészek stimulációja Gonadotropin-releasing hormon (GnRH) agonista „hosszú protokoll” vagy GnRH-antagonista protokoll szerint történt. Előbbi során a hipofízis gonadotropintermelésének felfüggesztése GnRH-agonista triptorelin (Gonapeptyl; Ferring, Kiel, Németország) napi 0,1 mg-os adagjával történt az IVF kezelést megelőző menstruációs ciklus sárgatest-fázisának közepétől. A többszörös dóziszú GnRH-antagonista kezelés [20] során, attól a naptól kezdve, amikor legalább egy tüsző átmérője elérte vagy meghaladta a 14 mm-t, 0,25 mg/nap Cetorelix (Cetrotide; Merck Serono; Darmstadt, Németország) adása történt. A GnRH előkezelést követően human menopausal gonadotropin (hMG) (Menopur, Ferring, Kiel, Németország) vagy folliculus stimuláló hormon (FSH) (Fostimon HP; IBSA, Lugano, Svájc) készítmények egyénre szabott stimulációs protokoll szerinti adagolásával többszörös tüszőérést indukáltunk. A gonadotropin stimuláció 5. napjától 1-2 naponta ultrahangvizsgálattal ellenőriztük a fejlődő tüszők számát és méretét, valamint szérumból történő ösztradiolszint-meghatározást végeztünk. Amikor legalább egy tüsző átmérője elérte a 18 mm-t, vagy legalább három tüsző átmérője a 16 mm-t, és a szérum ösztradiolszintje 2–300 pg/ml volt ≥ 16 mm-es tüszőnként, sor került az ovuláció kiváltására 5 000–10 000 IU human chorionic gonadotropin (hCG) (Choragon; Ferring, Kiel, Németország) adásával. Az tüszőpunkciót 36 órával a hCG-adás után végeztük transvaginalis ultrahang-ellenőrzés mellett. A sárgatestfázis támogatása napi háromszor 200 mg mikronizált progeszteron (Utrogestan; Besins Iscovesco, Párizs, Franciaország) intravaginalis adásával történt.

A petesejtek megtermékenyítése és az embriótenyésztés

Az ondómintákat a párok férfi tagjai a petesejtnyerés napján, intézetünkben adták. A spermaminták vizsgálatára az érvényben lévő WHO ajánlás alapján [21, 22], 30–60 perccel a mintaadás után került sor. A feldolgozás az ondó minta minőségének függvényében történt. Leggyakrabban gradiens centrifugálást végeztünk, amelyhez SpermGrad (Vitrolife, Göteborg, Svédország) spermapreparáló oldat különböző koncentrációit (90% és 45%) használtuk. Kiugróan

gyenge minőségű ondóminták (cryptozoospermia) feldolgozása G-MOPS Plus (Vitrolife) vagy 1%-os humán szérum albuminnal (HSA; Vitrolife) kiegészített EBSS-H (Lonza; Verviers, Belgium) tápoldattal végzett mosással történt. Azért, hogy a hagyományos IVF módszerrel történő megtermékenyítés a lehető legjobb motilitású mintával történhessen, a jó minőségű spermaminták feldolgozása swim-up technikával történt.

A petesejteket a megtermékenyítés előtt 4–6 órán keresztül szén-dioxid inkubátorban (Forma Scientific, Waltham, MA, USA) 37 °C-on inkubáltuk, 6%-os CO₂-szint és 96%-os páratartalom mellett, G-IVF Plus (Vitrolife) tápoldatban. Hagományos IVF kezelésre az osztályunkon alkalmazott protokoll szerint abban az esetben került sor, ha az ondó minta motilitása a feldolgozást követően a 85–90%-ot elérte, illetve a benne található progresszíven mozgó spermiumok száma legalább 1 millió volt, valamint legalább 4 petesejtet sikerült nyerni, illetve ha a nőbeteg életkora a 40 évet nem érte el. Negyven év felett hagyományos IVF kezelésre csak megfelelő mennyiségű petesejt és jó minőségű ondó minta esetén, egyedi elbírálás alapján kerülhetett sor. Az intracitoplazmatikus spermiuminjekció előtt a cumulussejteket hialuronidáz enzimmel (Hyaluronidase; FertiPro, Beernem, Belgium) történő emésztést követően mechanikus úton távolítottuk el. Csak érett, a meiotikus osztódás második fázisának metafázisában (MII) lévő petesejteket injektáltunk. Hagományos IVF módszerrel történő megtermékenyítés előtt a petesejteket körülvevő cumulus oophorus sejtréteg miatt az oocyták érettségének megállapítása nem volt lehetséges. Az petesejtek injektálása G-MOPS Plus tápoldatban történt, a petesejteket és embriókat ezt követően az embrióbeültetés napjáig G-1 Plus (Vitrolife) tápoldatban tenyésztettük. Az oldatokat minden esetben Ovoil (Vitrolife) paraffinolajjal fedtük. Hagományos IVF módszerrel történő megtermékenyítéshez a petesejteket a feldolgozott ondóminták megfelelő koncentrációjával együtt inkubáltuk. A megtermékenyülést mindkét esetben 16–18 órával, a korai osztódást vagy a pronucleusok eltűnését 24–26 órával a megtermékenyítést követően ellenőriztük. Az embriók fejlődési állapotát és minőségét a Veeck-féle osztályozási rendszer [23], valamint a nemzetközi embriológus társaságok ajánlása alapján [24] az inszeminációt követő 2. és 3. napon is értékeltük. Az embriók minőségének értékelése során minden egyes embrió egy morfológiai pontértéket kapott a sejtek fejlődési állapotnak megfelelő mérete, szabályos alakja, illetve a fragmentáltság mértéke alapján. A legalacsonyabb érték 1, míg a legjobb minőségű embriók pontértéke 5 volt. Ha több megtermékenyült petesejt állt rendelkezésünkre, mint amennyi beültethető, az embrióbeültetésre a 3., egyéb esetben a 2. napon került sor. A beültetést megelőzően az embriókat 5–15 percre G-2 Plus (Vitrolife) vagy EmbryoGlue (Vitrolife) tápoldatba helyeztük.

A terhesség létrejöttét 11 és 13 nappal az embrió-beültetést követően levett szérumminták β -hCG-szintjének meghatározásával állapítottuk meg. Amennyiben az meghaladta a 25 IU/l értéket, mely a második vérvétel során tovább emelkedett, terhességet állapítottunk meg. Klinikai terhesség létrejöttét 7–10 nappal a második hCG-tesztet követően elvégzett ultrahangvizsgálat során látható petezsák igazolta. Ebben az esetben a beágyazódott embriók számát is regisztráltuk.

Adatok értékelése

Az IVF ciklusokat az ondóminták minősége szerint 3 csoportba soroltuk. Mivel az ondóminták minőségük és a megtermékenyítés módja szerint különböző módon kerültek feldolgozásra, a felosztásnál a natív minta progresszív spermiumszámát vettük alapul, amely paraméter jól jellemzi a spermaminták minőségét [25, 26]. Az SPI csoportba kerültek a <15 millió, az SPII csoportba a 15–30 millió, az SPIII csoportba a ≥ 30 millió progresszív spermiumot tartalmazó minták felhasználásával végzett kezelések. Az IVF ciklusokat a nőbetegek életkora szerint (ÉK1: ≤ 31 év, ÉK2: 32–36 év, ÉK3: 37–40 év, ÉK4: ≥ 41 év), valamint a nyert petesejtek száma szerint is osztályoztuk (PS1: 1–3, PS2: 4–6, PS3: 7–9, PS4: ≥ 10).

Összehasonlítottuk az IVF és ICSI megtermékenyülési arányokat a különböző spermakategóriákban a nőbeteg életkora, illetve a petesejtek száma szerint. Megvizsgáltuk a beültetésre kerülő embriók minőségét hagyományos IVF és ICSI után, az ondóminták minőségének függvényében, a nőbetegek életkorát, illetve a nyert petesejtek számát is figyelembe véve. Összehasonlítottuk a beágyazódási arányokat, illetve az embrióbeültetésre vonatkoztatott klinikai terhességi arányokat, valamint a 2009. január és 2014. augusztus között elvégzett kezelésekből származó élveszülések arányait is. A megtermékenyülési arányokat a hagyományos IVF és az ICSI megtermékenyítés esetében is a normálisan megtermékenyült (2 db látható előmag a fertilizációt követő napon) petesejtek száma, valamint az összes petesejt számának hányadosaként számítottuk.

Statisztikai vizsgálatok

Az adatok értékelését Statistica 7 (StatSoft, USA) szoftverrel végeztük. A független változók összehasonlítására (az embriók sejttszáma, morfológiai pontértéke, fragmentációja stb.) Mann–Whitney U-próbát alkalmaztunk. A kategorikus változók összehasonlítását (pl. terhességi és beágyazódási arány stb.) Pearson-féle χ^2 -próbát, illetve alacsony mintaszámok esetén Fisher-féle egzakt próbát végeztünk. A vizsgált csoportok közötti különbségeket $P < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK

A leggyengébb minőségű ondóminták (SPI) felhasználásával egyetlen esetben sem végeztünk hagyományos IVF kezelést, ahogyan 4-nél alacsonyabb petesejtszám (PS1) esetén sem. Minden esetben szignifikánsan magasabb megtermékenyülési arányokat értünk el hagyományos IVF kezelést követően az összes spermakategóriát figyelembe véve (1. táblázat). Összesen 9635 petesejt adatait értékeltük (IVF: $n=3313$, ICSI: $n=6322$). Az SPII csoportban nem volt különbség a megtermékenyülési arányokban a két módszer között egyik korcsoportban sem, ugyanakkor hagyományos IVF kezelést követően magasabb volt a megtermékenyülési arány a PS2, alacsonyabb a PS3 petesejtcsoportban. Az SPIII csoportban szignifikánsan magasabbak voltak a megtermékenyülési arányok hagyományos IVF-et követően valamennyi petesejtszám- és életkorcsoportban. Embrióbeültetésre 60 esetben nem került sor (IVF: $n=3$, ICSI: $n=57$), melyből 13 esetben (IVF: $n=2$, ICSI: $n=11$), az embrióbeültetés elmaradásának oka túlstimuláció gyanúja volt. Az egy kezelés során beültetett embriók száma szignifikánsan magasabb volt a hagyományos IVF kezeléseknél (IVF: $2,15 \pm 0,54$ vs. ICSI: $2,06 \pm 0,70$; $p=0,005$). Az összes kezelést tekintve szignifikánsan magasabb embriótranszferre vonatkoztatott klinikai terhességi arányt sikerült elérnünk hagyományos IVF kezelést követően (49,4% vs. 37,2%; $p < 0,01$). Nem volt különbség ugyanakkor a klinikai terhességi arányban a két megtermékenyítési módszer között az SPII csoportban (45,8% vs. 36,1%; $p=0,374$), azonban a SPIII csoportban magasabb volt ez az arány hagyományos IVF-et követően (49,8% vs. 25,9%; $p < 0,01$). Hasonlóan nem találtunk szignifikáns eltérést a két módszer között az embrióbeültetésre vonatkoztatott beágyazódási arányban az összes spermakategóriát tekintve (30,5% vs. 25,4%; $p=0,060$), illetve a közepes minőségű ondóminták (SPII) esetében (36,7% vs. 24,1%; $p=0,729$), ugyanakkor szignifikánsan magasabb volt ez az arány a legjobb minőségű ondómintákkal végzett hagyományos IVF kezeléseket követően (29,9% vs. 16,8%; $p < 0,01$).

A 2. táblázat mutatja a beültetett embriók minőségét az ondóminták minőségétől függetlenül (összes SP kat.). Az embriók sejttszáma magasabb volt a PS2 és PS4 csoportokban petesejtszám szerinti, illetve az ÉK2, ÉK3 és ÉK4 csoportokban életkor szerinti felosztás esetén. A beültetett embriók fragmentáltsága alacsonyabb volt a PS3 és ÉK3 csoportokban, morfológiai pontértéke magasabb volt az ÉK3 és ÉK4 csoportokban hagyományos IVF-et követően. A többi tulajdonságban nem volt különbség a két megtermékenyítési mód között az ondóminták minőségét figyelmen kívül hagyva. Közepes minőségű ondómintákkal (SPII csoport) végzett kezeléseknél a beültetett embriók

1. táblázat Megtermékenyülési arány hagyományos in vitro fertilizációt (IVF) és intracitoplazmatikus spermiuminjekciót (ICSI) követően a különböző minőségű ondóminták esetében a petesejtszám és az életkor függvényében

Kategóriák		IVF Megtermékenyülési arány	N ¹	ICSI Megtermékenyülési arány	p-érték
Összes kezelés					
Petesejtek száma szerint	PS1 (1–3)	0		449	70,8%
	PS2 (4–6)	342	70,8%	929	58,9%
	PS3 (7–9)	746	66,2%	1177	59,0%
	PS4 (≥10)	2225	65,6%	3767	56,1%
Életkor szerint	ÉK1 (≤31 év)	760	67,5%	1909	57,5%
	ÉK2 (32–36 év)	1400	66,1%	2597	56,4%
	ÉK3 (37–40 év)	962	65,4%	1066	58,3%
	ÉK4 (≥41 év)	191	67,0%	750	57,3%
SPII kategória (15–30 millió progresszív spermium az ondómintában)					
Petesejtek száma szerint	PS1 (1–3)	0		46	58,7%
	PS2 (4–6)	29	79,3%	130	58,5%
	PS3 (7–9)	59	49,2%	133	65,4%
	PS4 (≥10)	151	65,6%	578	62,5%
Életkor szerint	ÉK1 (≤31 év)	41	65,9%	238	66,0%
	ÉK2 (32–36 év)	113	61,9%	372	62,1%
	ÉK3 (37–40 év)	74	63,5%	217	57,1%
	ÉK4 (≥41 év)	11	63,6%	60	65,0%
SPIII kategória (≥30 millió progresszív spermium az ondómintában)					
Petesejtek száma szerint	PS1 (1-3)	0		266	56,8%
	PS2 (4-6)	313	70,0%	444	59,7%
	PS3 (7-9)	678	67,6%	315	56,8%
	PS4 (≥10)	2044	65,6%	482	58,9%
Életkor szerint	ÉK1 (≤31 év)	719	67,6%	197	55,3%
	ÉK2 (32-36 év)	1248	66,3%	575	59,8%
	ÉK3 (37-40 év)	888	65,5%	329	61,7%
	ÉK4 (≥41 év)	180	67,2%	406	54,9%

¹kezelések száma (db)

2. táblázat A beültetésre került embriók minősége hagyományos in vitro fertilizációs kezelést (IVF), valamint intracitoplazmatikus spermiuminjekciót (ICSI) követően

Petesejtek száma szerint				Életkor szerint			
	IVF	ICSI	p-érték	IVF	ICSI	p-érték	
Sejtszám		4,1±1,9		7,5±1,8	7,2±2,1	0,121	
Morfológiai pontérték	PS1 (1–3)	2,3±0,6		ÉK1 (<31év)	2,6±0,7	2,5±0,7	0,402
Fragmentáció			14,0±11,0%			12,2±8,5%	11,4±7,7%
Sejtszám		6,3±2,3	0,016		7,7±1,8	6,9±2,4	<0,01
Morfológiai pontérték	PS2 (4–6)	2,4±0,7	0,679	ÉK2 (32–36 év)	2,6±0,7	2,5±0,7	0,644
Fragmentáció		13,8±9,7%	13,5±9,7%		0,567	11,4±7,4%	11,7±8,2%
Sejtszám		7,2±2,0	0,286		7,2±2,1	6,1±2,4	<0,01
Morfológiai pontérték	PS3 (7–9)	2,5±0,7	0,086	ÉK3 (37–40 év)	2,6±0,7	2,4±0,6	<0,01
Fragmentáció		10,4±6,9%	12,8±9,1%		<0,01	9,9±6,4%	12,8±8,4%
Sejtszám		8,0±1,6	0,024		7,3±2,6	5,3±2,6	<0,01
Morfológiai pontérték	PS4 (≥10)	2,7±0,7	0,080	ÉK4 (≥41év)	2,6±0,7	2,3±0,7	<0,01
Fragmentáció		10,7±6,4%	10,8±7,2%		0,617	12,3±6,6%	14,5±11,7

A feltüntetett értékek: átlag±szórás

3. táblázat A beültetésre került embriók minősége közepes minőségű ondómintával¹ végzett hagyományos in vitro fertilizációs kezelést (IVF), valamint intracitoplazmatikus spermiuminjekciót (ICSI) követően

		Petesejtek száma szerint			Életkor szerint			
		IVF	ICSI	p-érték	IVF	ICSI	p-érték	
Sejtszám			4,0±1,5		6,1±2,5	6,9±1,8	0,450	
Morfológiai pontérték	PS1 (1–3)		2,5±0,6		ÉK1 (<31év)	2,1±0,4	2,3±0,7	0,634
Fragmentáció			12,3±8,1%			12,9±10,4%	13,7±10,8%	0,827
Sejtszám		6,6±3,7	5,4±2,7	0,269		7,9±2,3	7,1±2,2	0,351
Morfológiai pontérték	PS2 (4–6)	2,4±0,7	2,3±0,7	0,993	ÉK2 (32–36 év)	2,5±0,5	2,6±0,6	0,713
Fragmentáció		12,5±6,3%	13,5±9,5%	0,885		10,9±5,0%	10,7±7,2%	0,458
Sejtszám		6,6±2,1	7,3±1,7	0,242		6,9±1,6	6,3±2,6	0,221
Morfológiai pontérték	PS3 (7–9)	2,6±0,8	2,4±0,5	0,831	ÉK3 (37–40 év)	2,7±0,9	2,5±0,7	0,671
Fragmentáció		9,2±4,7%	12,8±6,5%	0,115		8±4,9%	13,1±7,4%	0,015
Sejtszám		8,2±1,2	7,6±1,4	0,055		9,5±1,9	5,0±2,3	<0,01
Morfológiai pontérték	PS4 (≥10)	2,5±0,6	2,5±0,7	0,870	ÉK4 (≥41év)	2,3±0,5	2,4±0,6	0,639
Fragmentáció		10,0±6,5%	11,6±9,2%	0,685		11,3±4,8%	13,1±9,9%	0,876

¹SPII csoport, 15–30 millió progresszív spermium a natív mintában
A feltüntetett értékek: átlag±szórás

4. táblázat A beültetésre került embriók minősége jó minőségű ondómintával¹ végzett hagyományos in vitro fertilizációs kezelést (IVF), valamint intracitoplazmatikus spermiuminjekciót (ICSI) követően

		Petesejtek száma szerint			Életkor szerint			
		IVF	ICSI	p-érték	IVF	ICSI	p-érték	
Sejtszám			4,2±2		7,6±1,7	6,3±2,5	<0,01	
Morfológiai pontérték	PS1 (1–3)		2,3±0,6		ÉK1 (<31év)	2,6±0,7	2,4±0,6	0,069
Fragmentáció			14,2±11,1%			12,1±8,4%	11,2±7,8%	0,394
Sejtszám		6,3±2,2	5,7±2,8	0,038		7,6±1,8	6,5±2,9	<0,01
Morfológiai pontérték	PS2 (4–6)	2,4±0,7	2,3±0,7	0,420	ÉK2 (32–36 év)	2,6±0,7	2,5±0,6	0,211
Fragmentáció		13,9±10,0%	13,6±10,3%	0,447		11,4±7,7%	11,9±7,8%	0,491
Sejtszám		7,3±2,0	6,9±2,5	0,081		7,2±2,1	5,6±2,4	<0,01
Morfológiai pontérték	PS3 (7–9)	2,5±0,6	2,3±0,6	0,012	ÉK3 (37–40 év)	2,6±0,7	2,3±0,6	<0,01
Fragmentáció		10,5±7,0%	15,3±11,2%	<0,01		10,1±6,5%	13,3±9,8%	<0,01
Sejtszám		8,0±1,7	7,3±2,1	<0,01		7,1±2,6	5,1±2,5	<0,01
Morfológiai pontérték	PS4 (≥10)	2,7±0,7	2,6±0,7	0,063	ÉK4 (≥41év)	2,6±0,7	2,3±0,7	<0,01
Fragmentáció		10,7±6,4%	10,7±7,6%	0,511		12,4±6,8%	15,9±12,8%	0,316

¹SPIII csoport, ≥30 millió progresszív spermium a natív mintában
A feltüntetett értékek: átlag±szórás

minősége minden életkor-, illetve petesejtszám-csoportban hasonlított, függetlenül a megtermékenyítés módjától, kivéve az embriók sejtszámát az ÉK4, valamint a fragmentáció mértékét az ÉK3 csoportokban (3. táblázat).

Jó minőségű ondómintával (SPIII) végzett hagyományos IVF kezelést követően szignifikánsan nagyobb sejtszámú embriók kerültek beültetésre a PS2 és PS4 csoportokban, illetve az összes életkorcsoportban (4. táblázat). A PS3 és ÉK3 csoportokban a transzferált embriók magasabb morfológiai pontértékekkel és alacsonyabb fragmentáltsággal ren-

delkeztek hagyományos IVF megtermékenyítést követően. A 40 év feletti nőbetegek esetében (ÉK4) az embriók morfológiai pontértéke ICSI kezelést követően alacsonyabb, mint hagyományos IVF kezelés után.

A 2009. január és 2014. augusztus között elvégzett 986 embrióbeültetésből 3 esetben nem sikerült a terhesség kiemenetelének nyomon követése. Az ondóminták minőségét figyelmen kívül hagyva az embrióbeültetésre vonatkoztatott elveszülési arány szignifikánsan magasabb volt hagyományos IVF kezelést követően (40,4% vs. 31,0%; p<0,01). Nem volt

különbség az élveszülési arányok között az SPII csoportban (42,1% vs. 26,9%; $p=0,185$), ugyanakkor szignifikánsan magasabb volt ez az arány az SPIII csoportban hagyományos IVF kezelést követően (40,3% vs. 22,2%; $p<0,01$).

MEGBESZÉLÉS

Jelen tanulmányunkban 5 év IVF kezeléseinek adatait értékeltük. Megvizsgáltuk, hogy a megtermékenyítés módja milyen hatással van a megtermékenyülési arányra, az embriók minőségére, illetve a kezelések eredményességére különböző minőségű ondóminták esetén, figyelembe véve a nőbetegek életkorát és a petefészek hormonális stimulációjának eredményeképpen nyert petesejtek számát. Mivel az intracitoplazmatikus spermiuminjekció nemcsak költségesebb, időigényesebb, de kockázatosabb is [9, 16, 27, 28], mint a hagyományos in vitro fertilizációval történő megtermékenyítés, ezért alkalmazása csak abban az esetben indokolt, amikor a hagyományos IVF kezelésnél várhatóan jobb eredményeket érhetünk el ezzel a módszerrel.

Amennyiben a megtermékenyítéshez használt ondóminta minősége jó, úgy jobb eredményeket érhetünk el hagyományos IVF kezeléssel, még abban az esetben is, ha a rendelkezésre álló petesejtek száma alacsony. Tanulmányunkban az ondóminták minőségének megítéléséhez a natív mintában található progresszív spermiumok számát vettük alapul. Jó minőségű spermamintával végzett hagyományos IVF kezelések esetén minden petesejtcsoportban jobb volt a megtermékenyülési arány, mint ICSI kezelést követően. Meg kell ugyanakkor jegyeznünk, hogy a jelenleg érvényben lévő laboratóriumi protokollunk alapján, amennyiben négy-nél kevesebb petesejtet sikerült csak nyernünk, a megtermékenyítés módja minden esetben ICSI volt, ezért alacsony petesejtszám esetén további vizsgálatok szükségesek. A beültetett embriók minősége között nem volt különbség, azonban hétnél magasabb petesejtszám esetén néhány vizsgálati paraméter jobbnak bizonyult hagyományos IVF kezelést követően.

A jó minőségű ondómintákkal végzett IVF kezelések esetén a megtermékenyülési arány minden korcsoportban magasabb volt, mint ICSI-t követően, azonban csak a 32–36 és a ≥ 41 éves betegek esetében érte el a különbség a szignifikanciaszintet. A beültetett embriók minősége minden korcsoportban jobb volt, mint ICSI kezelést követően. Nemcsak a megtermékenyülés, de a klinikai terhességi és beágyazódási arány is magasabb jó minőségű ondómintával végzett hagyományos IVF kezelést követően.

Közepes minőségű ondómintával végzett hagyományos IVF kezelések során a megtermékenyülési arány nem különbözött az ICSI-vel végzett kezelések eredményétől. A beültetésre kerülő embriók minősége között szintén

nem találtunk különbséget, függetlenül a rendelkezésre álló petesejtek számától és a nőbetegek életkorától. Ehhez hasonló eredményeket kaptak Plachot és munkatársai [7], akik mérsékelt oligo-astheno-teratozoospermias ondómintákkal végzett kezeléseket vizsgáltak. Ha a tanulmányukba bevont kezelés a pár első IVF ciklusa volt, a petesejtek felét hagyományos IVF segítségével, felét ICSI-vel termékenyítették meg. Nem találtak különbséget sem a megtermékenyülési arányokban, sem az embriók sejtjelmében a megtermékenyítést követő második napon, sem a kiváló minőségű embriók arányában. Meg kell azonban jegyezni, hogy vizsgálatukban csak fiatal ($32,2\pm 3,3$ év) nőbetegek vettek részt.

Tournaye és munkatársai [29] szintén egy betegtől származó petesejteket termékenyítettek meg a két különböző módszerrel. Vizsgálatukba olyan pácienseket vettek be, akik már legalább három sikertelen intrauterin inszeminációs (IUI) kezeléssel voltak túl. A hagyományos IVF módszer alkalmazásának feltétele az volt, hogy a gradiens centrifugálással történő feldolgozás után a spermamintában a mozgó spermiumok koncentrációja legalább 0,5 millió/ml legyen. Ezek alapján jó és közepes minőségű ondómintákkal egyaránt végeztek kezeléseket. Hagományos IVF esetén kétfajta protokollt követtek. Az első esetben a petesejteket egyenként 5000 mozgó spermiummal inszeminálták. A megtermékenyülési arány ekkor alacsonyabb volt, mint ICSI esetén. A második esetben az inszeminációs koncentráció magasabb volt (20 000 mozgó spermium petesejtenként), ekkor az ICSI-hez hasonló megtermékenyülést sikerült elérniük. Az embriók morfológiája és az átlagos osztódási arány nem különbözött a hagyományos IVF és ICSI módszerek között. Tanulmányunkban ehhez hasonló eredményt kaptunk. Tournaye és munkatársai [29] metaanalízise alapján az ICSI módszerrel történő megtermékenyítés jóval eredményesebbnek bizonyult a hagyományos IVF kezelésekkel szemben (62,8% vs. 35,7%). A szerzők a határértékű spermáparaméterekkel jellemzett ondómintákkal végzett kezeléseket követően is ugyanerre a következtetésre jutottak (ICSI: 62,7% vs. IVF: 32,5%). Ez ellentétben áll saját eredményeinkkel, azonban nem szabad figyelmen kívül hagyni, hogy a metaanalízisbe bevont tanulmányok között akad olyan, ahol olyan kezeléseket vizsgáltak, melyekben korábban hagyományos IVF kezelés során egyetlen petesejt sem termékenyült meg [3]. Az ICSI utáni magas megtermékenyülési arány azzal lehet kapcsolatban, hogy azt több tanulmányban is az injekált petesejtekre vonatkoztatva adták meg [3, 30], azaz míg hagyományos IVF kezelés során minden cumulus-petesejt komplex inszeminálásra kerül függetlenül azok érettségi állapotától, addig ICSI esetén csak a meiotikus sejtosztódás második fázisában lévő (MII), érett pe-

tesejtek kerülnek injektálására. Hasonló következtetésre jutottak ugyanakkor van der Westerlaken és munkatársai [31] is. Határon lévő spermparaméterek esetén ICSI után magasabb megtermékenyülési arányt (50% vs. 41%) kaptak, valamint több jó minőségű embrió fejlődött, amikor mindkét módszert használták egyazon betegnél. A terhességi arányokban azonban nem találtak különbséget. Ehhez hasonló eredményekről számoltak be Verheyen és munkatársai is [2], akik azt találták, hogy asthenozoospermia esetén a megtermékenyülés teljes elmaradásának esélye alacsonyabb ICSI-t követően. Azoknál a betegeknél, ahol hagyományos IVF-et követően volt megtermékenyülés, nem találtak szignifikáns különbség a megtermékenyülési arányok között (ICSI: 59,4% vs. IVF: 45,7%).

A fentiekkel némileg ellentétben, a hagyományos IVF jobb eredményességét támasztja alá Wang és munkatársainak friss közleménye [32]. Ők arról számolnak be, hogy hagyományos IVF módszerrel történő megtermékenyítést követően a jó minőségű embriók aránya, a balsztocisztaképződés aránya, valamint a beültetésre vagy fagyasztásra alkalmas embriók aránya is magasabb. Nem találtak szignifikáns különbséget ugyanakkor a beágyazódási és klinikai terhességi arányokban, illetve a vetélések gyakoriságában sem. Ezzel szemben Bhattacharya és munkatársai, valamint van Rumste és munkatársai [5, 33] szignifikánsan magasabb beágyazódási és terhességi arányokat tapasztaltak hagyományos IVF kezelést követően, míg a megtermékenyülési és osztódási arányokban nem volt különbség a két módszer között, ahogyan az embriók morfológiai pontértékei is megegyeztek.

A különböző tanulmányok eltérő eredményeinek egyik oka lehet a különböző betegpopulációk vizsgálata, de minden bizonnyal szerepet játszik a különféle protokollok alkalmazása is a hagyományos IVF kezelés során. Utóbbit jól példázza Tournaye és munkatársainak [29] munkája, akik nemcsak a két megtermékenyítési módot hasonlították össze, de hagyományos IVF során is két különböző spermiumkoncentrációt használtak a petesejtek inszeminálásához, és így eltérő eredményeket kaptak.

Összefoglalva elmondható, hogy a hagyományos IVF kezelés nemcsak kevésbé költség- és időigényesebb, de biztonságosabb is, mint az intracitoplazmatikus spermiuminjekció, ezért minden olyan esetben, amikor várhatóan legalább olyan eredményeket érhetünk el alkalmazásával, mint ICSI-vel, a megtermékenyítés módjának a hagyományos IVF kezelést kell választani. Jelen tanulmányunkban a jó minőségű ondómintákkal végzett hagyományos IVF kezeléseket nemcsak a megtermékenyülési arány volt magasabb még alacsony petesejtszám, valamint magasabb női életkor esetén is, de a beültetésre kerülő embriók minősége is jobb volt az ICSI-vel végzett kezelésekkal összehason-

lítva. A közepes minőségű (15–30 millió progresszív spermiumot tartalmazó) ondóminták is felhasználhatók hagyományos IVF kezelésre, akár alacsonyabb petesejtszám vagy magasabb női életkor esetén is, anélkül, hogy gyengébb megtermékenyülési aránytól kellene tartanunk.

Érdekltségi nyilatkozat:

A szerzőknek nincs anyagi érdekltsége a közlemény lebo-nyolítását, eredményeit és a következtetéseit illetően.

IRODALOMJEGYZÉK

- [1] Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340(8810):17–18.
- [2] Verheyen G, Tournaye H, Staessen C et al. Controlled comparison of conventional in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in patients with asthenozoospermia. *Hum Reprod* 1999; 14(9):2313–2319.
- [3] Kastrop PMM, Weima SM, Van Kooij RJ, Te Velde ER. Comparison between intracytoplasmic sperm injection and in-vitro fertilization (IVF) with high insemination concentration after total fertilization failure in a previous IVF attempt. *Hum Reprod* 1999; 14(1):65–69.
- [4] Fishel S, Aslam I, Lisi F et al. Should ICSI be the treatment of choice for all cases of in-vitro conception? *Hum Reprod* 2000; 15(6):1278–1283.
- [5] Bhattacharya S, Hamilton MPR, Shaaban M et al. Conventional in-vitro fertilisation versus intracytoplasmic sperm injection for the treatment of non-male-factor infertility: a randomised controlled trial. *Lancet* 2001; 357(9274):2075–2079.
- [6] Khamsi F, Yavas Y, Roberge S et al. Intracytoplasmic sperm injection increased fertilization and good-quality embryo formation in patients with non-male factor indications for in vitro fertilization: a prospective randomized study. *Fertil Steril* 2001; 75(2):342–347.
- [7] Plachot M, Belaisch-Allart J, Mayenga JM et al. Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in mild male factor infertility. *Hum Reprod* 2002; 17(2):362–369.
- [8] Davies MJ, Moore VM, Willson KJ et al. Reproductive technologies and the risk of birth defects. *New Eng J Med* 2012; 366(19):1803–1813.
- [9] Devroey P and Van Steirteghem A. A review of ten years experience of ICSI. *Hum Reprod Update* 2004; 10(1):19–28.

- [10] *Lie RT, Lyngstadass A, Ørstavik KH et al.* Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2005; 34(3):696–701.
- [11] *Wen J, Jiang J, Ding C et al.* Birth defects in children conceived by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2012; 97(6):1331–1337.
- [12] *Fauser BCJM, Devroey P, Diedrich K et al.* Health outcomes of children born after IVF/ICSI: a review of current expert opinion and literature. *REPROBIO MED Online* 2014; 28(2):162–182.
- [13] *Bonduelle M, Van Assche E, Joris H et al.* Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters. *Hum Reprod* 2002; 17(10):2600–2614.
- [14] *Ciapa B and Arnoult C.* Could modifications of signalling pathways activated after ICSI induce a potential risk of epigenetic defects? *Int J Dev Biol* 2011; 55(2):143.
- [15] *Wong MY and Ledger WL.* Is ICSI Risky? *Obstet Gynecol International* 2013; Article ID: 473289
- [16] *Chan AW, Luetjens CM, Dominko T et al.* TransgenICSI reviewed: foreign DNA transmission by intracytoplasmic sperm injection in rhesus monkey. *Mol Reprod Dev* 2000; 56(S2):325–328.
- [17] *Palermo GD, Neri QV, Takeuchi T et al.* Genetic and epigenetic characteristics of ICSI children. *REPROBIO MED Online* 2008; 17(6):820–833.
- [18] *Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J et al.* Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2014; 25(8):1851–1862.
- [19] *Boulet SL, Mehta A, Kissin DM et al.* Trends in Use of and Reproductive Outcomes Associated With Intracytoplasmic Sperm Injection. *JAMA* 2015; 313(3):255–263.
- [20] *Diedrich K, Diedrich C, Santos E et al.* Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1994; 9(5):788–791.
- [21] World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge University Press 1999; Cambridge.
- [22] World Health Organization. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen. 5th ed. WHO Press 2010; Geneva.
- [23] *Veeck LL.* Atlas of the human oocyte and early conceptus. Williams & Wilkins 1991; Baltimore.
- [24] Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod* 2011; 26(6):1270–1283.
- [25] *Fancsovits P, Lehner Á, Murber Á, Rigó J Jr., Urbancsek J.* Az ondóminták minőségének megítélése a WHO-referenciaértékek változásának tükrében. *Magyar Andrológia* 2013; 18(2):29–34.
- [26] *Hamilton JAM, Cissen M, Brandes M et al.* Total motile sperm count: a better indicator for the severity of male factor infertility than the WHO sperm classification. *Hum Reprod* 2015; 30(5):1110–1121.
- [27] *Wennerholm, UB, Bergh C, Hamberger L et al.* Incidence of congenital malformations in children born after ICSI. *Hum Reprod* 2000; 15(4):944–948.
- [28] *Bonduelle M, Wennerholm UB, Loft A et al.* A multi-centre cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, in vitro fertilization and natural conception. *Hum Reprod* 2005; 20(2):413–419.
- [29] *Tournaye H, Verheyen G, Albano C et al.* Intracytoplasmic sperm injection versus in vitro fertilization: a randomized controlled trial and a meta-analysis of the literature. *Fertil Steril* 2002; 78(5):1030–1037.
- [30] *Payne, D, and Matthews CD.* Intracytoplasmic sperm injection--clinical results from the reproductive medicine unit, Adelaide. *Reprod Fert Develop* 1995; 7(2):219–227.
- [31] *van der Westerlaken L, Naaktgeboren N, Verburg H et al.* Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in patients with borderline semen: a randomized study using sibling oocytes. *Fertil Steril* 2006; 85(2):395–400.
- [32] *Wang CZ, Feng GX, Zhang B et al.* Effects of IVF versus ICSI on the outcomes of elective blastocyst culture. *Zhonghua nan ke xue* 2014; 20(8):697–701.
- [33] *van Rumste MM, Evers JL, Farquhar C.* Intracytoplasmic sperm injection versus conventional techniques for oocyte insemination during in vitro fertilisation in couples with non-male subfertility. *The Cochrane database of systematic reviews.* 2011; CD001301.

Levelezési cím:

Lehner Ádám
 Semmelweis Egyetem ÁOK
 I. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika
 E-mail: lehner.adam@noi1.sote.hu