

Petefészek-stimulációs kezelések hatása a szervezeten kívüli megtermékenyítés eredményességére

Doktori értekezés

Dr. Murber Ákos

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:	Dr. Urbancsek János egyetemi tanár, az MTA doktora
Hivatalos bírálók:	Dr. Gimes Gábor egyetemi docens, Ph.D. Dr. Szilágyi András egyetemi tanár
Szigorlati bizottság elnöke:	Dr. Szende Béla egyetemi tanár, az MTA doktora
Szigorlati bizottság tagjai:	Dr. Tóth Zoltán egyetemi tanár, az MTA doktora Dr. Csapó Zsolt egyetemi docens, Ph.D.

Budapest

2010

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	2
Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés	6
1.1. Az IVF-kezelés folyamata	7
1.2. Petefészek-stimuláció során alkalmazott készítmények	9
1.2.1. Clomifen-citrát	9
1.2.2. Gonadotropinok	10
1.2.3. GnRH-agonista analógok	11
1.2.4. GnRH-antagonista analógok	14
1.3. Petefészek-stimulációs protokollok	17
1.3.1. Clomifen-citráttal végzett petefészek-stimuláció	17
1.3.2. Petefészek-stimuláció gonadotropinok alkalmazásával	18
1.3.3. Kombinált GnRH-analóg + gonadotropin kezelések	19
1.4. A petefészek-stimuláció közvetett hatásai	24
1.4.1. A sárgatestműködésre kifejtett hatás	24
1.4.2. Az embrióminőségre kifejtett hatás	26
2. Célkitűzések	28
3. Módszerek	30
3.1. Adatgyűjtés és a vizsgálatok felépítése	30
3.1.1. Klinikai paraméterek vizsgálata	30
3.1.2. GnRH-antagonista cetorelix különböző adagolási protokoll szerinti alkalmazásának összehasonlítása	30
3.1.3. GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálat	31
3.1.4. HP-FSH – recFSH prospektív randomizált tanulmány adatainak összehasonlítása	31
3.2. Az alkalmazott petefészek-stimulációs protokollok	32
3.2.1. GnRH-analóg kezelés	32
3.2.2. Gonadotropin-stimuláció	33
3.2.3. Ovulációindukció	35
3.2.4. A sárgatestfázis támogatása	35
3.3. Petesejtnyerés, spermapreparálás, megtermékenyítés	35
3.4. A petesejtek morfológiai vizsgálata	36
3.4.1. Az 1. sarkitest morfológiájának vizsgálata	37
3.4.2. A perivitellinális tér méretének vizsgálata	38
3.4.3. A cytoplasma szemcsézettségének vizsgálata	38
3.4.4. A cytoplasmában megfigyelhető vacuolumok	39
3.5. A zygota vizsgálata	40
3.5.1. A megtermékenyülés ellenőrzése	40
3.5.2. A nucleolusok vizsgálata	40
3.6. A korai praeembryo fejlődés vizsgálata	41
3.7. Az osztódó praeembryo morfológiai vizsgálata	41
3.8. Embrióbeültetés	42

3.8.1.	Az embrióbeültetés időpontja.....	42
3.8.2.	A beültetett praeembryók száma	42
3.8.3.	A beültetésre kerülő praeembryók kiválasztása	43
3.9.	Az in vitro fertilizációs kezelések kimenetele	43
3.10.	Az adatok statisztikai értékelése	44
4.	Eredmények	45
4.1.	Az Asszisztált Reprodukciós Osztály fennállásának 15 éve alatt elvégzett IVF-kezelések klinikai eredményessége	45
4.2.	GnRH-antagonista cetorelix kétféle adagolási protokoll szerinti alkalmazásának összehasonlítása.....	50
4.3.	Kombinált GnRH-agonista+gonadotropin és GnRH-antagonista + gonadotropin stimulációk klinikai mutatóinak összehasonlítása.....	52
4.4.	GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálat eredményei	55
4.5.	HP-FSH – recFSH prospektív randomizált tanulmány embriológiai adatainak retrospektív elemzése	58
5.	Megbeszélés.....	62
5.1.	15 év alatt elvégzett IVF-kezelések klinikai eredményességének értékelése.....	62
5.2.	GnRH-antagonista cetorelix kétféle adagolási protokoll szerinti összehasonlításának értékelése	63
5.3.	Kombinált GnRH-agonista+gonadotropin és GnRH-antagonista+gonadotropin stimulációk klinikai mutatóinak összehasonlítása.....	65
5.4.	GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálat eredményei	68
5.5.	HP-FSH – recFSH prospektív randomizált tanulmány klinikai és embriológiai adatainak retrospektív értékelése.....	70
6.	Következtetések.....	73
7.	Összefoglalás	75
8.	Irodalomjegyzék	77
9.	Saját publikációk jegyzéke	98
9.1.	A doktori értekezés témájában megjelent közlemények.....	98
9.2.	A tudományos munkásságot megalapozó egyéb közlemények	98
9.3.	Idézhető előadáskivonatok.....	100
10.	Köszönetnyilvánítás	103

Rövidítések jegyzéke

AG	agonista analóg
ANT	antagonista analóg
ART	asszisztált reprodukciós módszerek (assisted reproductive technology)
BMI	testtömegindex (body mass index)
CC	clomifen-citrát
DAG	diacylglycerol
E ₂	ösztradiol
eDET	elective dual embryo transfer (választottan két embrió beültetése)
eSET	elective single embryo transfer (választottan egy embrió beültetése)
ESHRE	European Society of Human Reproduction and Embryology
ET	embriótranszfer (embrióbeültetés)
EUG	méhén kívüli terhesség (extrauterine gravidity)
FSH	folliculus stimuláló hormon
GnRH	gonadotropin-releasing hormon
GV	germinális vesiculum
hCG	human chorialis gonadotropin
hMG	human menopausalis gonadotropin
HP-FSH	nagymértékben tisztított (highly-purified) follikulum stimuláló hormon
HP-hMG	highly-purified human menopausalis gonadotropin
HS	human szérum
ICMART	International Committee for the Monitoring of ART
ICSI	intracytoplasmikus spermium injektálás
IGF	insulin-like growth factor
im.	intramuscularis
IP3	inozitol-4,5-trifoszfát
iv.	intravenosus
IVF	in vitro fertilisatio (szervezeten kívüli megtermékenyítés)
K _D	disszociációs konstans
LH	luteinizáló hormon

LZD	lézeres zona-drilling
MI	metafázis I (a meiotikus osztódás első fázisának metafázisa)
MII	metafázis II (a meiotikus osztódás második fázisának metafázisa)
NE	nemzetközi egység
OHSS	ovarium hyperstimulációs szindróma
OPU	„ovum pick up” (petesejtnyerés)
P	progeszteron
PB	polar body (sarkitest)
PCOS	polycystás ovarium szindróma
PGD	preimplantációs genetikai diagnosztika
PGS	praeimplantációs genetikai screening
PI	profázis I (a meiotikus osztódás első fázisának profázisa)
PN	pronucleus (előmag)
PNBD	pronuclear breakdown (az előmagok eltűnése)
PRL	prolaktin
PVS	perivitellin space (perivitellinális tér)
PZD	partialis zona-dissectio
recFSH	rekombináns folliculus stimuláló hormon
recLH	rekombináns luteinizáló hormon
sc.	subcutan
sER	simas felszínű endoplasmikus retikulum
SUZI	subzonalis spermiuminjekció
T ₆	embryotenyésztő tápoldat
T ₆ H	embryotenyésztő tápoldat HEPES-sel kiegészítve
TESE	testicular sperm extraction (spermiumnyerés hereszövetből)
WHO	World Health Organization
ZD	zona drilling

1. Bevezetés

1978. július 25-én Angliában megszületett az első szervezeten kívüli megtermékenyítés (in vitro fertilizáció: IVF) útján fogant gyermek. A rendkívüli eredményről Patrick Steptoe és Robert Edwards számolt be a Lancet című folyóiratban [1]. 32 év elteltével a kiemelkedő úttörő munka elismeréseként Robert Edwards 2010. október 4-én megkapta az orvosi Nobel-díjat. Azóta több, mint négymillió újszülött köszönheti életét ennek a módszernek, mely napjainkban a meddőség kezelésére alkalmazott asszisztált reprodukciós kezelések (ART) legbonyolultabb, legköltségesebb de egyben legeredményesebb módszere. Európában évente félmillióra tehető az ezen módszerrel született gyermekek száma, 2007-ben Dániában a születések 5%-a IVF útján fogant gyermek volt.

A tüszőérés folyamatának gyógyszeres serkentése az első sikeres szervezeten kívüli megtermékenyítés kezeléseket követően a mindennapi gyakorlat szerves részévé vált. A petefészek-stimuláció célja a fogamzás esélyének javítása többszörös domináns tüszőérés és ezzel párhuzamosan több petesejt érésének elősegítése révén. Petefészek-stimulációt mind in vivo (időzített együttlét vagy intrauterin inseminatio), mind in vitro (IVF-kezelés) megtermékenyülés esetén alkalmazhatunk. IVF-kezelés esetén petefészek-stimuláció hatására egyidejűleg több petesejt nyérése válik lehetővé, melyet in vitro megtermékenyítés, majd az embriók tenyésztése és méhürbe történő beültetése (embriótranszfer: ET) követ. (A fogamzást követően kialakult embriót fejlődésének első 14 napján előébrénynek, azaz praeembryónak nevezzük. A szakirodalomban -és ezért dolgozatomban is- azonban az „embrió” kifejezés a „praeembryo” szinonímjaként használatos.) A meddő nők többségénél számos beültetésre alkalmas embrió áll rendelkezésre; a beültetésre nem került szám feletti embriók lefagyasztásával majd egy esetleges későbbi ciklusban történő felolvasztásával (kryopreservatio) a pár előtt újabb esély nyílik terhesség elérésére ismételt petefészek-stimuláció és petesejtnyerés (és ezek minden kockázata) nélkül [2, 3].

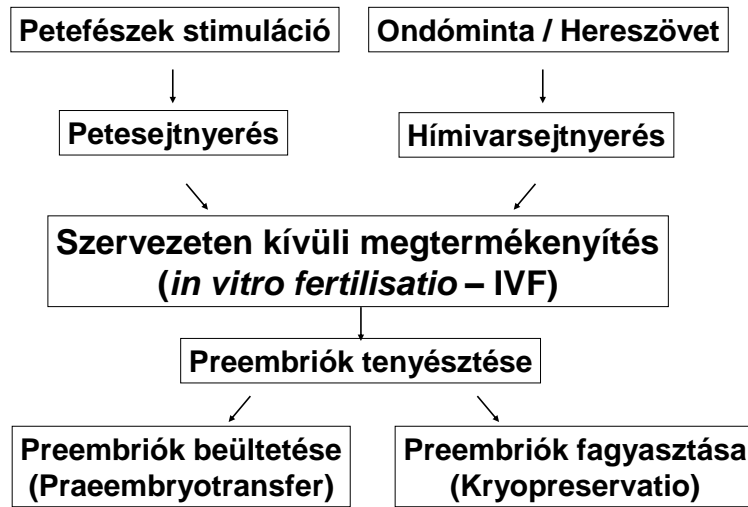
Az utóbbi évtizedben a petefészek-stimuláció célja megváltozott: nem maximális számú nyert petesejt elérése a cél, hanem a létrejövő embriók minőségének optimalizálása [4, 5]. Életképesebb embriók beültetésével lehetővé vált az ikerterhességek számának és ezáltal a perinatalis mortalitás és morbiditás jelentős csökkentése [6].

A nyert petesejtek [7, 8] és a fejlődő praeembryók [9, 10] minősége fontos prediktív értékkel bír a beágyazódásra és terhesség létrejöttére [11-13] és ezen keresztül az élveszülésekre (ún. „take home baby” vagyis „hazavitt újszülött” arány), mely az IVF-kezelések eredményességének a meddő párok szempontjából legfontosabb mutatója.

Tekintettel arra, hogy a petefészkek-stimuláció módszere az IVF-kezelés során az egyik választható és befolyásolható faktor, a petesejt- és embrióminőséget valamint a kezelés kimenetelét befolyásoló hatásának ismerete kiemelkedő jelentőségű.

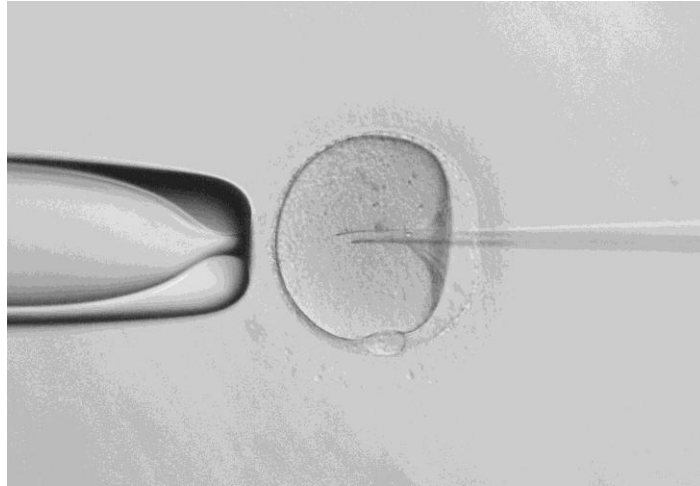
1.1. Az IVF-kezelés folyamata

A petefészkek kontrollált túlstimulációja során egyénre szabott, ultrahang ellenőrzéssel végzett folliculometria és szérum ösztadiolszint meghatározások segítségével ellenőrzött gyógyszeres kezelést végzünk. Többszörös tüszőérés biztosítása vagy az endogén follikulus stimuláló hormon (FSH) termelésének növelésén (clomifén-citrát) vagy exogén FSH (gonadotropinok) bevitelén alapul. Napjainkban a stimuláció elengedhetetlen kísérője az endogén luteinizáló hormon (LH) szint emelkedés megelőzésére alkalmazott gonadotropin releasing hormon (GnRH) -analóg kezelés. A petefészkek kontrollált túlstimulációját követően ovulációindukció után 36 órával kerül sor a petesejtnyerésre, melyet transvaginalis ultrahangvezérelt tüszőleszívás (ovum pick up: OPU) segítségével végzünk. A pár férfitagjának ondómintájából vagy hereszövetéből (testicular sperm extraction: TESE) nyert hímivarsejtek segítségével történik a petesejtek megtermékenyítése (1. ábra).



1. ábra: A szervezeten kívüli megtermékenyítés folyamata

Amennyiben megfelelő mennyiségű és minőségű hímivarsejt illetve petesejt áll rendelkezésünkre, a megtermékenyülést ún. „hagyományos” IVF kezelés (in vitro inseminatio) segítségével érjük el: a petesejt-cumulus-komplexet -a petesejtek érését segítő előinkubálás és az ondóminta előkészítése után- megfelelő számú motilis spermiumot tartalmazó inszeminációs médiumba helyezünk és 14-20 órán át termosztátban együtt inkubáljuk [14]. Amennyiben az ondóminta előkészítése után a progresszíven mozgó spermiumok száma kevesebb mint 1 millió vagy ötnél kevesebb petesejtet nyertünk, vagy amennyiben a páciens anamnesisében korábbi in vitro inseminatio sikertelensége szerepel, a hagyományos IVF-kezelés helyett intracytoplasmikus spermiuminjekció (ICSI) kezelést végzünk [15]. ICSI során a petesejt cytoplasmájába mikropilláris segítségével egyetlen spermiumot injektálunk (2. ábra). Az ICSI-n kívül ismert egyéb mikrofertilizációs módszereket (zona drilling-ZD: a zona pellucida megnyitása erősen savas oldattal; partialis zona-dissectio-PZD: zona pellucida mechanikus megnyitása; lézeres zona-drilling-LZD; subzonális spermiuminjekció-SUZI: spermium perivitellinaris térbe való juttatása) ma már nem használjuk a mindennapi gyakorlatban.



2.ábra: Intracytoplasmikus spermiuminjekció (ICSI)
(dr. Fancsovits Péter felvétele)

A megtermékenyített petesejteket illetve preembryókat tenyésztjük, majd a megtermékenyítést követő 2-5. napon a méh üregébe ültetjük (praeembryotransfer). A be nem ültetett jó minőségű preembryókat fagyasztjuk, majd később felolvasztva beültethetjük (kryopreservatio).

1.2. Petefészek-stimuláció során alkalmazott készítmények

1.2.1. Clomifen-citrát

A clomifen-citrát (CC) orális antiösztrogén, mely a petefészek-működés stimulációját az ösztradiol (E_2) negatív visszacsatolásának gátlásával, a hypophysis FSH-termelésének növelésén keresztül éri el. A clomifen-citrát első klinikai alkalmazására az 1960-s években került sor [16], pontos hatásmechanizmusa azonban még mindig nem ismert részleteiben [17]. Az elmúlt fél évszázadban világszerte a leggyakrabban használt petefészek-stimulációra alkalmas gyógyszer volt és maradt máig a meddőség kezelésében. Ebben per os való alkalmazhatósága, alacsony ára és biztonságossága játsza a fő szerepet.

A gonadotropin-elválasztás átmeneti növekedését létrehozó kívánatos hatása mellett a CC-nak kedvezőtlen perifériás hatásokat is tulajdonítunk. In vitro tanulmányok az emberi granulosa- és luteális sejtek szteroidtermelésére kifejtett negatív hatását írták le [18], melynek azonban a domináns tüszőérés kövezményeként létrejött magasabb ösztradiolszint esetén valószínűleg nincs klinikai jelentősége. Az elért ovuláció és a terhességi arányok közötti ellentmondás magyarázatául szolgálhat a méh szintjén kifejtett antiösztogén (a cervicális nyák termelődésére és a méhnyálkahártya receptivitására kifejtett negatív) hatása [19]. A CC mai ismereteink szerint nincs hatással a koraszülésre és nem növeli meg a congenitalis malformációk számát [20]. A CC több, mint 12 hónapnyi szedésével összefüggésbe hozott petefészekrák-kockázat vélt emelkedése miatt [21] néhány országban csak 6 hónapig adható.

1.2.2. Gonadotropinok

Az FSH és az LH a hypophysis első lebenye által termelt és kiválasztott két aleggységből álló glycoprotein hormon. Mind nőkben, mind férfiakban a legfontosabb szerepet játsszák a reprodukció működés és az ivarsejtek fejlődésének szabályozásában.

Két különböző önálló gonadotropin létezését már 1931-ben igazolták, ezt követően sikerült mind az LH-t, mind az FSH-t izolálni és tisztítani. Az 1950-es években klinikai kutatások kimutatták, hogy az emberi hypophysis kivonatai alkalmasak a nemiszervek működésének serkentésére [22]. Postmenopausális nők vizeletével végzett kísérletek vezettek a humán menopausális gonadotropin (hMG vagy menotropin) készítmények előállításához, melyeket a 60-as évek elejétől alkalmazzuk petefészek-stimulációra [23]. Az elmúlt öt évtizedben számos ilyen vizeletből származó („urinary” vagy „human derived”) készítményt állítottak elő.

A hMG készítmények 1:1 arányú (75-75 NE/ampulla) FSH és LH bioaktivitás mellett több, mint 95%-ban tartalmaztak szennyező, biológiailag inaktív emberi fehérjét, melyek potenciálisan allergén hatásúak. A tisztítás hatékonyságának növelésével szükségessé vált human chorialis gonadotropin (hCG) hozzáadása a készítményekhez ezen bioaktivitási arány fenntartása érdekében [24]. Klinikai jelentősége miatt megjegyzendő, hogy az in vivo bioaktivitás mérés pontatlansága jelentős „batch to batch” bioaktivitás eltérést okoz.

A fehérjetisztítás hatékonyságának növelésével a szennyező, nem aktív fehérjék mennyisége a hMG-készítményekben csökkent, ez a tisztított vizelet-FSH készítmények (urofollitropinok: uFSH) kifejlesztéséhez vezetett a 80-as évek elején [23]. A tisztított vizelet-FSH készítmények ampullánként kevesebb, mint 0,7 NE LH-aktivitásúak, azonban ezek sem mentesek a szennyező jellegű humán fehérjéktől. A tisztítási eljárások további fejlődésével az 1990-es évek közepén megjelentek a nagymértékben tisztított urofollitropin (highly purified-FSH: HP-FSH) és HP-hMG készítmények. A HP-FSH előállítása szintén emberi vizeletből történik, de ampullánként kevesebb, mint 0,001 NE LH aktivitással rendelkezik és <3% biológiailag inaktív fehérjét tartalmaz. FSH-specifikus aktivitása eléri a 10000 NE/mg fehérje koncentrációt [25].

A rekombináns-DNS technológia megjelenése lehetővé tette olyan készítmények előállítását, melyek maximális tisztaság mellett tisztán csak FSH-aktivitással rendelkeznek. A biológiai aktivitás eléréséhez az FSH glycolisatiója nélkülözhetetlen, ezért csak emlős sejtek képesek FSH-t termelni [26]. Kínai hörcsög petefészek-sejtekbe ültetett glikoprotein-hormon kódoló génekkel lehetővé vált az emberi rekombináns FSH (recFSH) készítmények előállítása [27], melyek az 1990-es évek második felében jelentek meg kereskedelmi forgalomban [25]. A rekombináns készítmények nagy tisztaságúak, nagy mennyiségben előállíthatók és állandó bioaktivitással rendelkeznek. 1992-ben közölték az első ezen új készítménnyel végzett petefészek-stimulációt követően elért terhességet [28] és IVF-kezelést [29]. Tisztaságuknak köszönhetően a rekombináns készítmények adagolásának alapja nem a bioaktivitás, hanem a fehérjesúly. Ezek az úgynevezett „filled-by-mass” készítmények [30]. Jelenleg Magyarországon follitropin alfa és follitropin beta hatóanyag néven vannak forgalomban recFSH-t tartalmazó készítmények.

Az utóbbi évtizedben rekombináns LH (recLH) [31, 32] és rekombináns hCG (rechCG) [33] klinikai alkalmazása is lehetővé vált, majd megjelentek a kombinált recFSH-t és recLH-t egyaránt tartalmazó készítmények. 1992-ben sikerült előállítani olyan hosszú hatású FSH-agonistát (FSH-carboxy-terminalis-peptid: FSH-CTP) [34], mely féléletideje in vivo háromszor-négyszer nagyobb, mint a hagyományos recFSH-é.

1.2.3. GnRH-agonista analógok

A gonadotropin-releasing hormon (GnRH) szerkezetét Schally és munkatársai 1971-ben határozták meg [35, 36]. A GnRH tíz aminosavból álló peptid, melyet a hypothalamus

nucleus ventromedialisában és arcuatusában található neuronok állítanak elő prekursor polipeptidből. A hypothalamusból az intrauterin életben és a pubertás után pulzatilisen, 60-120 percenkénti amplitúdó maximummal választódik ki a portális keringésbe, a hypophysisbe jutva a gonadotróp sejteket LH- és FSH-termelésre serkenti. A GnRH- elválasztás frekvenciáját csökkenti a prolaktin (PRL), kis koncentrációban az ösztadiol (E_2) és endogén opiátokon keresztül a progeszteron (P). Katekolaminok és nagy koncentrációban az ösztadiol serkenti a GnRH termelődését [14]. A GnRH mRNS-ét kimutatták már a hypophysisben [37], a placentában, a petefészkekben, a méh izomzatában, az endometriumban, a prosztatában és még a vér mononucleáris sejtjeiben is; ezeken a helyeken valószínűleg autokrin és parakrin szabályozó faktorként játszik szerepet [38-40]. A GnRH gyorsan lebomlik, plazma félétideje 2-5 perc.

A GnRH pulzatilis elválasztása mindkét nemben elengedhetetlen a gonádok normális működéséhez. Jelenlegi terápiás alkalmazásai a gonadotrophormon-elválasztást szabályozó hatásán alapulnak.

A GnRH decapeptid szerkezetében ismertté váltak a stabilitásért, a receptor kötődésért és a hypophysis gonadotróp sejtjeinek aktiválásáért felelős aminosavak [41]. A természetes GnRH-molekula egy-két aminosavának szerkezetét megváltoztatva olyan klinikailag biztonságos GnRH-analógokat fejlesztettek ki, melyek a GnRH-receptorok agonistái. A természetes GnRH-molekula egyszerű szerkezetbeli változtatásai, mint pl. a glicin helyettesítése a 6-os pozícióban vagy a Gly-NH₂ helyettesítése a 10-es pozícióban, a vegyületet hidrofóbbá és ezáltal enzimatis bontással szemben ellenállóbbá tette. A GnRH-agonisták szerkezetét a 3. ábra mutatja be.

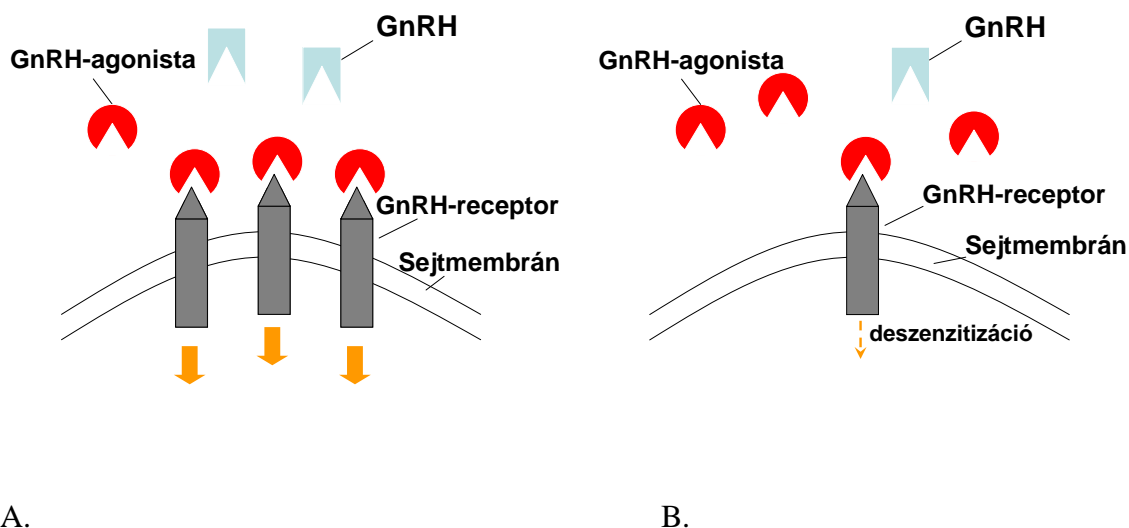
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
GnRH	p-Glu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-NH ₂
Buserelin	p-Glu	His	Trp	Ser	Tyr	<i>D-Ser</i>	Leu	Arg	Pro	<i>ethylamid</i>
Goserelin	p-Glu	His	Trp	Ser	Tyr	<i>D-Ser</i>	Leu	Arg	Pro	<i>Az-Gly-NH₂</i>
Leuprolin	p-Glu	His	Trp	Ser	Tyr	<i>D-Leu</i>	Leu	Arg	Pro	<i>ethylamid</i>
Triptorelin	p-Glu	His	Trp	Ser	Tyr	<i>D-Trp</i>	Leu	Arg	Pro	Gly-NH ₂
Nafarelin	p-Glu	His	Trp	Ser	Tyr	<i>D-Nal</i>	Leu	Arg	Pro	Gly-NH ₂
Histerelin	p-Glu	His	Trp	Ser	Tyr	<i>D-His</i>	Leu	Arg	Pro	Gly-NH ₂

3. ábra: GnRH-agonista-analógok szerkezete (Coccia és munkatársai nyomán [42]). Kék kiemeléssel a GnRH szerkezete.

A GnRH és analógjai a GnRH-receptorokon keresztül hatnak, melyek a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok családjába tartoznak. GnRH és agonistái hatására a receptorokhoz kapcsolt Gq-fehérjék aktiválódnak. Ez olyan jelátviteli folyamatot indít el, mely diacylglycerol (DAG) felszabadulásával aktiválja a protein kináz C enzimet, és inozitol-4,5-trifoszfát (IP3) felszabadulásával kalciumionok kiáramlásához vezet az intracellularis kalciumraktárakból. E folyamatok rövidtávú hatása az LH és FSH szekréciója, majd hosszú távon szintézisük serkentése.

1978-ban fedezték fel, hogy a GnRH-agonista analógok folyamatos adásával egy átmeneti serkentési szakaszt követően a nemi szervek működése és a szexuáliszteroidok mennyisége jelentősen csökken [43]. A GnRH-agonista analógokat folyamatosan adagolva a kezdeti „flare-up” hatás után a GnRH-receptorok számának csökkenése, azaz down-regulációja, illetve a receptorok deszenzitizációja miatt alakul ki a gonadotropin- elválasztás gátlása [42]. (A receptor jelátviteli folyamatainak gátlása (deszenzitizációja)

fontosabb szerepet játszik a gátlásban, mint a receptorszám csökkenése, melynek csak egy kezdeti szerepet tulajdonítanak. [44] (4. ábra)) A GnRH-agonista analógok legnagyobb klinikai jelentősége, hogy reverzibilisen képesek gátolni a GnRH-receptorokat, ezzel megakadályozva a kedvezőtlen korai LH-koncentráció emelkedést és a korai tüszőrepedést a petefészek-stimuláció alatt.



4. ábra: GnRH-agonista analógok hatása a hypophysealis GnRH-receptorokra: kezdeti serkentő hatás (A), receptor down-regulatio, deszenzitizáció (B). (Coccia és munkatársai nyomán [42])

1.2.4. GnRH-antagonista analógok

Közel három évtizedig tartott megfelelő biztonságosságú és farmakokinetikai jellemzőkkel rendelkező GnRH-antagonista analóg molekulák kifejlesztése. A GnRH aminosavjai közül a 2. és 3. aminosav felelős a GnRH-receptorokon kifejtett hatásért, a 6. pozícióban lévő glicinnek meghatározó szerepe van a GnRH enzimatis lebontásában, míg az 1., 6. és 10. aminosav a decapeptid háromdimenziós szerkezetének kialakításában fontos. A 2. pozícióban található hisztidin szubsztitúciójával érhető el, hogy a kapott GnRH-analóg a GnRH-receptorhoz kötődve azt ne aktiválja. További szubsztitúciókkal az 1., 3., 6., 8. és 10. helyen és nem természetes D-konfigurációjú aminosavak használatával növelhető a GnRH-analógok antagonist hatása [42]. (5. ábra)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
GnRH-I.	p-Glu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-NH₂
GnRH-II.	p-Glu	His	Trp	Ser	<i>His</i>	Gly	<i>Trp</i>	<i>Tyr</i>	Pro	Gly-NH₂

Első generáció

Phe-Ala	p-Glu	<i>D-Phe</i>	Trp	Ser	Tyr	<i>D-Ala</i>	Leu	Arg	Pro	Gly-NH ₂
Phe-Trp-Phe	p-Glu	<i>D-Phe</i>	<i>D-Trp</i>	Ser	Tyr	<i>D-Phe</i>	Leu	Arg	Pro	Gly-NH ₂
Nal-Arg	<i>D-Nal</i>	<i>D-4F-Phe</i>	<i>D-Trp</i>	Ser	Tyr	<i>D-Arg</i>	Leu	Arg	Pro	<i>D-Ala</i>
Diterix	<i>D-Nal</i>	<i>D-4C-Phe</i>	<i>D-Trp</i>	Ser	Tyr	<i>Db-Arg</i>	Leu	Arg	Pro	<i>D-Ala</i>

Második generáció

Nal-Glu	<i>D-Nal</i>	<i>D-4Cl-Phe</i>	<i>D-Pal</i>	Ser	<i>Arg</i>	<i>D-Glu</i>	Leu	Arg	Pro	<i>D-Ala</i>
----------------	--------------	------------------	--------------	-----	------------	--------------	-----	-----	-----	--------------

Harmadik generáció

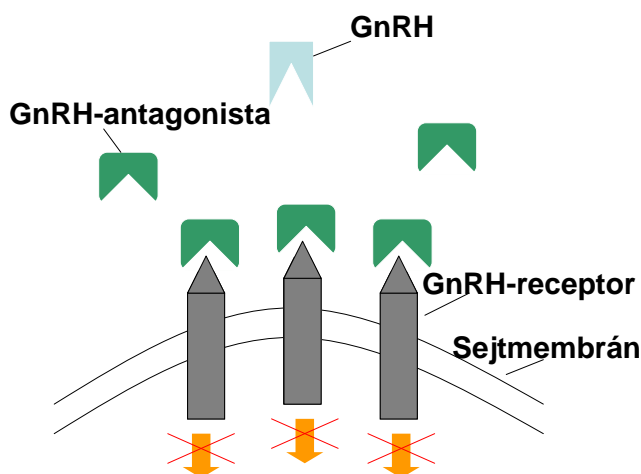
Antide	<i>D-Nal</i>	<i>D-4Cl-Phe</i>	<i>D-Pal</i>	Ser	<i>NicLys</i>	<i>D-NicLys</i>	Leu	<i>Lys (iPr)</i>	Pro	<i>D-Ala</i>
Azaline B	<i>D-Nal</i>	<i>D-4Cl-Phe</i>	<i>D-Pal</i>	Ser	<i>Phe</i>	<i>D-Phe</i>	Leu	<i>Lys (iPr)</i>	Pro	<i>D-Ala</i>
Degarelix	<i>D-Nal</i>	<i>D-Cpa</i>	<i>D-Pal</i>	Ser	<i>Aph</i>	<i>D-Aph</i>	Leu	<i>Lys (iPr)</i>	Pro	<i>D-Ala</i>
Teverelix	<i>D-Nal</i>	<i>D-Cpa</i>	<i>D-Pal</i>	Ser	Tyr	<i>D-hCit</i>	Leu	<i>Lys (iPr)</i>	Pro	<i>D-Ala</i>
Abarelix	<i>D-Nal</i>	<i>D-Cpa</i>	<i>D-Pal</i>	Ser	<i>N-Met-Tyr</i>	<i>D-Asn</i>	Leu	<i>Lys (iPr)</i>	Pro	<i>D-Ala</i>
Ganirelix	<i>D-Nal</i>	<i>D-4Cl-Phe</i>	<i>D-Pal</i>	Ser	Tyr	<i>Db-Arg</i>	Leu	<i>Db-Arg</i>	Pro	<i>D-Ala</i>
Cetrorelix	<i>D-Nal</i>	<i>D-4Cl-Phe</i>	<i>D-Pal</i>	Ser	Tyr	<i>D-Cit</i>	Leu	<i>Arg</i>	Pro	<i>D-Ala</i>

5. ábra: GnRH-antagonista analógok szerkezete [42, 45, 46] Jelmagyarázat: kék szín: GnRH szerkezete, sárga szín: forgalomban lévő GnRH-antagonisták szerkezete.

A GnRH-antagonista analógok első generációjának számos hátránya közül a legjelentősebb az erős hisztaminfelszabadulás volt, ami akár anafilaxiás reakciót is kiválthatott. Ezt részben csökkentette a hidrofób N-terminalis és a bázikus C-terminalis

jelenléte a második generációs GnRH-antagonista analógoknál [47], azonban ezt a mellékhatást minimálisra csökkenteni csak a harmadik generáció antagonistáinál sikerült az 5., 6. és a 8. aminosav szubsztitúciójával [42]. A harmadik generációs antagonisták (cetorelix és ganirelix) [46], kompetitív antagonistaként dóziszfüggően gátolják a GnRH-receptorokat és így az LH- és FSH-elválasztást.

Az agonistáktól eltérően, a GnRH antagonistáknak analógjai nem fejtenek ki serkentő hatást a receptorokon, hanem azonnal kialakul a gonadotropin-elválasztás gátlása [42, 46]. (6. ábra) A GnRH-antagonisták adagolása után 4-6 órával már megfigyelhető a plazma LH-koncentrációjának 70%-os, FSH-koncentrációjának 30%-os csökkenése [46].



6. ábra: GnRH-antagonisták hatása: azonnali gátlás (Coccia és munkatársai nyomán [42])

Toxiológiai vizsgálatok igazolták a GnRH-antagonisták biztonságos használatát: nem mutatták ki a célszervek atrófiáját alkalmazásuk hatására és mutagén hatást sem igazoltak. Bár rövidebb ideig, de itt is jelentkezhetnek az agonisták alkalmazásakor jellemző „menopauzális” tünetek, mint fejfájás, hőhullámok, hangulat-ingadozások, csökkent libidó. Leggyakoribb mellékhatásuknak a helyi bőrreakciókat (bőrpír és fájdalom) tekinthetjük a sc. injekció beadásának helyén [46].

A GnRH-antagonista analógok által kiváltott azonnali gátló hatás és alkalmazásuk abbahagyását követően a hypophysis működésének azonnali visszatérése [48-50] alkalmassá teszi petefészkek-stimulációs kezelésekben való alkalmazásukat, így 2001-től az IVF-kezelések mindennapi szereplőivé váltak [51].

1.3. Petefészek-stimulációs protokollok

1.3.1. Clomifen-citráttal végzett petefészek-stimuláció

Az első IVF-kezeléseket spontán mestruációs ciklusban végezték, azonban már a '80-as évek elején Trounson és mtsai több terhességet is közöltek CC-tal történt petefészek-stimulációt követően [52]. Ezt követően Quigley és mtsai olyan IVF-kezeléseket végeztek, melyben a CC-t önállóan vagy gonadotropin kiegészítéssel alkalmazták petefészek-stimulációra [53].

A kombinált GnRH-agonista + hMG protokollok bevezetése előtt elsősorban a kombinált CC+hMG protokollokat alkalmazták petefészek-stimulációra. A clomifen-citrát kezelés a ciklus 2-5. napja között kezdhető el és 100-150 mg/nap dózisban öt egymást követő napig alkalmazható. A leggyakrabban használt protokollokban az exogén gonadotropin kezelést (mellyel több érő tüszőt és így fokozott petefészekválaszt érhető el) a CC abbahagyása után kezdték. A kezelés alkalmazásakor a hMG szükséglet csökkenését és a sárgatestfázisban magasabb szérumszintet figyeltek meg [54]. Ingerslev és mtsai randomizált tanulmányban hasonlították össze a CC-stimulációt a spontán ciklusban végzett IVF-kezeléssel [55]. Dhont és mtsai ugyanezt a hagyományos GnRH-analóg+gonadotropin protokollal hasonlították össze [56]. Az észlelt terhességi arányok clomifen stimulációt önmagában alkalmazva a spontán menstruációs ciklusban végzett IVF-kezelések során megfigyelteknél magasabbnak, de a hagyományos kombinált GnRH-analóg+gonadotropin protokollokhoz képest alacsonyabbnak bizonyultak. A CC használatával elért többszörös tüszőnövekedés az esetek egy részében idő előtti LH-emelkedést okoz, mely a CC kezelés jellegéből (az ösztrogén visszacsatolás megváltoztatása) adódóan nem védhető ki GnRH-agonistával kombinált alkalmazásával. Ezért ma tisztán clomifen vagy hMG-vel kiegészített clomifen stimulációt nem alkalmazunk rutinszerűen IVF-kezelések során.

Engel és mtsai úgynevezett „lágy stimuláció”, míg Williams és mtsai a „minimális stimuláció” alkalmazása során újabban szintén felvetették a clomifen-citrát gonadotropinokkal és GnRH-antagonistákkal való kombinációjának létjogosultságát [57, 58].

A clomifent szedő nők akár 10%-ában is előfordulhatnak hőhullámok, azonban az egyéb mellékhatások, hányinger, hányás, bőrreakciók, emlőfeszülés, szédülés és enyhe hajhullás ritkán említett panasz. Minden mellékhatás a kezelés abbahagyását követően megszűnik.

1.3.2. Petefészek-stimuláció gonadotropinok alkalmazásával

A gonadotropin készítmények még ma is az IVF-kezeléseknél alkalmazott petefészek-stimulációk elsőnek választandó gyógyszerei. A kontrollált túlstimuláció során az alkalmazott gonadotropin készítmények hatására (Baird „kiszélesztett FSH-kapu” elmélete szerint [59]) több domináns tüsző indul fejlődésnek és ezáltal több petesejt nyérése válik lehetővé.

100-300 NE/nap kezdő dózist követően a megfigyelt petefészekválasztól (szérum E₂ meghatározás és folliculometria) függően állítjuk be a gonadotropinok további adagolását. Out és mtsainak és Yong és mtsainak randomizált klinikai tanulmányukban még idősebb betegek esetén sem sikerült kimutatni a kezelés eredményességének javulását emelt adagú FSH hatására [60, 61], mely a petefészek-öregedés (tüszőszám-csökkenés) folyamatával magyarázható. Gyengén reagálók esetén alkalmazott emelt adagú gonadotropin adása Tarlatzis és mtsai munkája alapján nem tűnik egyértelműen kedvezőnek [62]. Többszörös tüszőnövekedés és ovarium hyperstimulációs szindróma (OHSS) lehetőségének felmerülése esetén a gonadotropinok mennyiségét gyakran csökkentjük vagy adásukat átmenetileg akár fel is függesztjük (ún. „coasting”) [63], bár D’Angelo és mtsai közleménye alapján ennek hatásossága nem egyértelműen bizonyított [64].

1995-től a rekombináns FSH-készítmények bevezetésével számos multicentrikus tanulmány született, melyet a recFSH és a vizelet-gonadotropinok közötti különbségek vizsgálata céljából végeztek. Daya metaanalízise [65] és gazdaságossági tanulmánya [66] a recFSH minimális előnyét mutatta a vizeletből nyert FSH-val szemben. Agrawal és mtsai recFSH és hMG összehasonlítására született metaanalízise hasonló adatokat talált a két csoportban [67]. Ezt követő multicentrikus tanulmányok is hasonló klinikai eredményességről számoltak be a vizelet FSH és recombinans FSH összehasonlításából [68] vagy HP-hMG és recFSH összehasonlításából [69]. van Wely és mtsai a hMG-t a recFSH-val összehasonlító metaanalízisükben a terhességi arányokban nem találtak különbséget [70], míg Al-Inany és mtsai metaanalízisükben recFSH-t, vizelet FSH-t és

hMG-t összehasonlítva arra az eredményre jutottak, hogy nincs bizonyíték a recFSH-nak bármely vizelet gonadotropinnal szembeni klinikai előnyére [71]. Recombinans FSH használatával az emberi vizeletben is kimutatható prion fehérjék átjutásának elméleti lehetősége csökkent [72].

Újabban egy FSH agonista (úgynevezett recFSH-CTP, mely a hCG molekula CTP darabját tartalmazza az FSH β -láncához kapcsolva) hatását vizsgálták IVF-kezelésekben. Kimutatták, hogy egyszeri 120 mikrogrammos FSH-CTP injekcióval többszörös tüszőérést lehet elérni, hasonlóan ahhoz, mintha 150 IU recFSH-t adnánk naponta egy héten keresztül [73]. (Az FSH-CTP féléletideje 60-75 óra.) Amikor az FSH-CTP szint egy bizonyos határérték alá csökken, az FSH-érzékeny tüszők fejlődése megáll és atretikussá válnak. Ezt további, naponta adagolt FSH injekciókkal meg lehet előzni. Duijkers és mtsai 2003-ban számoltak be az első ilyen FSH-CTP segítségével fogant terhességből származó szülésről [74]. A megfelelő dózist kereső tanulmányok bebizonyították, hogy az egyszeri injekció a többszörös tüszőérést akár egy héten keresztül is képes fenntartani [75].

1.3.3. Kombinált GnRH-analóg + gonadotropin kezelések

A petefészek kontrollált túlstimulációjakor több tüsző párhuzamos érése magasabb ösztadiol koncentrációt eredményez, mely korai LH-koncentráció emelkedéshez vezet. Az idő előtti luteinizáció a petesejtek korai előregedését és ezzel a kezelés eredménytelenségét okozza. A GnRH-analógok fő indikációs területe ezen korai LH-koncentráció megelőzése a stimulációs kezelések során. Placebo-kontrollos vizsgálatban kimutatták, hogy GnRH-analógok alkalmazása nélkül a stimulált nők 20%-ánál kellett leállítani a kezelést a korai LH-koncentráció emelkedés miatt [76].

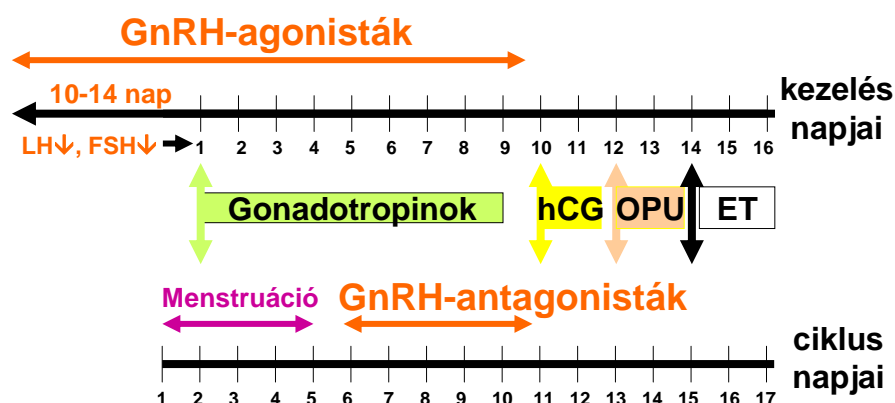
Ennek megelőzésére és számos egyéb előnyük miatt a GnRH-analógokat világszerte alkalmazzák a petefészek-stimulációs protokollok részeként.

1.3.3.1. *Kombinált GnRH-agonista analóg + gonadotropin kezelés*

Az endogén gonadotropin-elválasztás gátlására először Felming és mtsai kezdtek el GnRH-agonista analógokat alkalmazni [77, 78]. A GnRH-agonisták folyamatos adagolásával elérhető az LH- és FSH-elválasztás gátlása. A GnRH-agonista analógok bevezetésével az idő előtti LH-emelkedés, az idő előtti tüszőérés és luteinisatio megelőzésével jelentősen nőtt az IVF-kezelések sikeressége. Bár több mint 20 éve alkalmazzuk őket, meglepő

módon csak kevés dózis kereső tanulmányt végeztek eddig [79] és szintén hiányoznak az olyan tanulmányok, amelyekben különböző GnRH-agonistákat hasonlítanak össze. A figyelem inkább az optimális stimulációs protokoll megválasztására irányult.

Nagy áttörést jelentett a petefészek-stimulációs protokollok gyakorlatában, amikor Fleming és mtsai 1985-ben kidolgozták a GnRH-agonista analógok alkalmazásának ún. „hosszú protokollját” [80]. Napjainkban is ezt a GnRH-agonista hosszú protokollt tekintjük a petefészek-stimulációs kezelések során elsőként választandó kezelésnek. Ennek során a GnRH-agonista analógot a tervezett stimulációt megelőző ciklus luteális fázisában kezdjük és a hCG adás napjáig folytatjuk. (7. ábra).



7. ábra: Kombinált GnRH-agonista + gonadotropin stimuláció „hosszú protokollja” és kombinált GnRH-antagonista + gonadotropin „többszöri dózis” protokoll (Reissmann és munkatársai nyomán [81]) Jelmagyarázat: hCG: humán chorialis gonadotropin, OPU: „ovum pick up” (petesejtnyerés), ET: embriótranszfer

A „rövid” vagy más néven „flare up” protokollban a GnRH-agonistát a spontán menstruációs ciklus első, második vagy harmadik napjától adagoljuk az ovulációindukcióig. A gonadotropin készítményt a ciklus második-harmadik napjától kezdjük adni [82]. Ez esetben a GnRH-agonista kezdeti stimulációs hatása segíti a tüszőérés megindulását. A megfelelő tüszőérést átlagosan a 12. napon érjük el, s így

ekkorra a hypophysis deszenzitizációja és az idő előtti LH-csúcs megelőzése lehetővé válik. Az ún. „ultrarövid” protokollban csak a spontán ciklus első három napján adjuk a GnRH-agonistákat, mellette a gonadotropinokat a ciklus második vagy harmadik napján kezdjük adagolni [83].

Számos kutató megpróbálta a GnRH-agonisták kezelési idejét csökkenteni alkalmazásuk korábbi abbahagyása útján, mivel a hypophysis normális működése a készítmény abbahagyását követően körülbelül 14 nappal tér vissza [84]. E szerint a GnRH-analóg készítményt a stimulációt megelőző ciklus középső luteális fázisától kezdve adagoljuk és az FSH-kezelés kezdetét követően vagy akár ez előtt abbahagyjuk adását. Számos prospektív randomizált tanulmány vizsgálta e kezelési módszer hatását a hosszú protokollhoz viszonyítva [85, 86]. Bár nem jött létre ez esetben sem idő előtti LH-emelkedés, e kezelés semmilyen klinikai előnnyel nem járt a betegek számára.

Pellicer és mtsai, majd Urbancsek és mtsai munkája alapján a GnRH-agonista analóg készítmény alkalmazásának kezdési időpontjaként legkedvezőbbnek a megelőző ciklus középső luteális fázisa bizonyult a korai vagy késői luteális vagy folliculáris fázishoz viszonyítva [87, 88]. Nem elhanyagolható előnyt jelent a GnRH-agonista hosszú protokoll a petesejtnyerés és így az egész IVF-kezelés időzítésére vonatkozóan, hiszen Chang és mtsai munkájából régóta ismert, hogy a hypophysis deszenzitizációját követően az exogén gonadotropin-adás elkezdése szabadon megválasztható, s ez nem megy az IVF-kezelések eredményességnek rovására [89]. A luteális fázisban való GnRH-analóg kezelés hátránya, hogy a kezelés kezdetekor még biztonsággal nem zárható ki egy esetleges spontán létrejött terhesség.

A rövid és a hosszú GnRH-agonista protokollok összehasonlítása során kitűnt, hogy bár a hosszú protokoll során több gonadotropin-ampulla adása szükséges, a nyert petesejtek nagyobb száma és a magasabb terhességi arány előnyt jelent a hosszú protokoll javára. Ezen előnye miatt a GnRH-agonistákkal végzett hosszú protokoll az IVF-stimulációk standard kezelésévé vált [90].

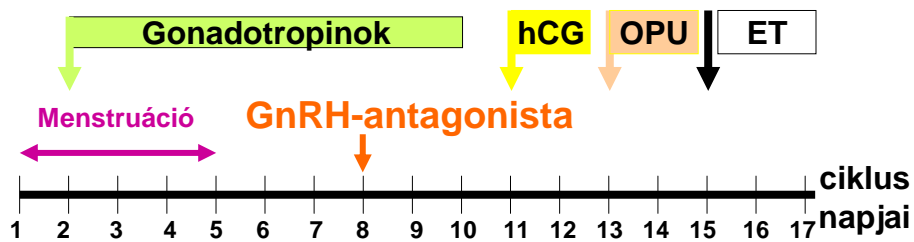
A GnRH-agonistákkal végzett stimuláció egyik legveszélyesebb potenciális szövődménye az ovarium hyperstimulációs szindróma (OHSS), mely akár a stimuláció leállításához, a kezelés befejezéséhez vezethet. Az OHSS veszélyére utal, ha a petefészkek

ultrahanggal mért átmérője nagyobb mint 80 mm és a 16 mm vagy annál nagyobb átmérőjű tüszők száma több mint 10, illetve ha az ösztradiol koncentráció 4000 pg/ml fölé emelkedik. Tünetei: hasi panaszok, tapintható petefészekcysták, hasi puffadás, hányinger, hányás, hasmenés, ascites, hydrothorax, súlyos haemoconcentratio, thrombemboliás szövődmények [14].

1.3.3.2. Kombinált GnRH-antagonista analóg + gonadotropin kezelés

1991-ben Ditkoff és munkatársai közölték eredményeiket a második generációs GnRH-antagonista analóg Nal-Glu használatával kapcsolatban [47]. Bár mellékhatásai jelentősen csökkentek az első generációs GnRH-antagonista analógokhoz képest, az antagonisták széles körű alkalmazása még váratott magára. 1995-ben szinte egyszerre közölték Felberbaum illetve Olivennes és munkatársai az első harmadik generációs antagonistá cetorelix-szel végzett klinikai vizsgálatok eredményeit [91, 92]. A cetorelix 1999 óta elérhető az európai piacon, megjelenését szinte azonnal követte a másik forgalomban lévő antagonistá, a ganirelix [93, 94]. 2000 óta a GnRH-antagonista analógok és ezek alkalmazása a nemzetközi irodalom középpontjában áll, hatékonyságukat már számos munkacsoport különböző betegcsoporton igazolta.

GnRH-antagonista analógokat az idő előtti LH-emelkedés megelőzésére a korai vagy középső tüszőfázisban alkalmazzuk. Számos tanulmányt végeztek arra vonatkozóan, hogy a minimális hatékony dózist és a kezelés optimális módját meghatározzák [95, 96]. A GnRH-antagonistákat kétféle módon adagolhatjuk a petefészek-stimuláció során. Olivennes és mtsai által közölt „egyszeri-dózis” vagy „francia” protokollban a késői tüszőfázisban (a stimuláció 7. napján) egy egyszeri 3 mg-os cetorelix injekció adása történik [42, 92, 97]. (8. ábra)



8. ábra: GnRH-antagonista analógok „francia” vagy „egyszeri dózis” protokollja a petefészek-stimuláció során. (Reissmann, illetve Olivennes és munkatársai nyomán [81, 97]) Jelmagyarázat: hCG: humán chorialis gonadotropin, OPU: „ovum pick up” (petesejtnyerés), ET: embriótranszfer

Az ún. „Lübeck”-féle vagy „többszöri dózis” protokollban a spontán menstruációs ciklus 2. vagy 3. napján elkezdett petefészek-stimuláció 5. napjától (a 6. vagy 7. ciklusnaptól) kezdjük adni a GnRH-antagonista analógot az ovulációindukció napjáig [97, 98] (7. ábra). Az alkalmazás ideje alatt naponta 1 sc. injekciót adunk 0,25 mg/nap adagban. Az alkalmazott antagonista cetorelix vagy ganirelix lehet.

A „flexibilis” protokoll során az antagonisták adagolását akkor kezdjük el, amikor minimum egy tüsző elérte a 14 mm-es nagyságot és a szérum ösztadiol koncentráció a 2-300 pg/ml értéket. Ezt összehasonlítva a rögzített antagonista protokollal Mansour és mtsai nem találtak különbséget az IVF-kezelések kimenetelében azon kívül, hogy az antagonista készítmény adagja csökkenthető volt a flexibilis protokollnál [99]. Aboulghar és mtsai vizsgálata alapján úgy tűnik, hogy kombinált GnRH-antagonista + gonadotropin stimuláció során nem kell növelni a gonadotropin adagját [100] és nem kell az LH-t pótolni [101]. Hohmann és mtsai szerint a GnRH-antagonista analógot a késői folliculáris fázisban adva lehetővé válik, hogy az endogén FSH-emelkedés hatására meginduljon a tüszők növekedése és ezt követően exogén gonadotropinokkal többszörös tüszőnövekedést érjünk el [102]. Ez az újabb megközelítés költséghatékonyabb és betegek számára kényelmesebb a standard stimulációs protokolloknál.

A kombinált GnRH-antagonista + gonadotropin stimuláció protokollját módosíthatjuk azzal, hogy a kezelést megelőző ciklusban orális fogamzásgátló tablettát szednek a meddő nők. Huirne és mtsai közleménye alapján így még kiegyensúlyozottabbá tehetők a betegek LH- és FSH-plazmakoncentrációi és ez kedvezően hat a kezelés eredményességére [103]. Ennek ellenére Pinkas és mtsai és Griesinger és mtsai összehasonlító vizsgálatai szerint nem sikerült szignifikáns különbséget kimutatni a GnRH-antagonisták „többszöri dózis” protokollja és az orális fogamzásgátló előkezeléssel módosított protokoll hatékonysága között [104, 105].

Kolibianakis és mtsai felvetették, hogy GnRH-antagonistáknak korábbi adagolása megakadályozza az LH-szint korai emelkedését. Randomizált tanulmányuk eredménye alapján sem a tüszőérés, sem az érett petesejtek számát nem befolyásolta kedvezőtlenül, ha a GnRH-antagonistát a 6. stimulációs nap helyett az elsőt kezdték el alkalmazni. Ennek ellenére az 1. napon elkezdett adagolás a folliculáris fázisban csökkent LH- és ösztadiol szintekhez vezetett [106].

A GnRH-antagonisták alkalmazásánál ritkábban alakulnak ki petefészek-ciszták és kisebb az OHSS kialakulásának a veszélye is. Hátrányuk, hogy az asszisztált reprodukciós osztály munkabeosztását kötöttebbé teszi, az ovulációindukció és így a tüszőleszívás és az embriótranszfer ideje nehezebben tervezhető, mint kombinált GnRH-agonista + gonadotropin kezeléseknél.

1.4. A petefészek-stimuláció közvetett hatásai

1.4.1. A sárgatestműködésre kifejtett hatás

Jones összefoglaló tanulmánya megállapította, hogy a hMG-vel történő petefészekstimuláció kedvezőtlen a sárgatestfázisra: stimulációt követően a progeszteronértékek a korai luteális fázisban erősen megemelkednek, ezzel párhuzamosan a luteális fázis hossza jelentősen csökken [107].

A GnRH-agonista analóggal kiegészített stimulációk során kiderült, hogy a sárgatestfázisban lassú a hypophysis működésének helyreállása a down-regulációt követően. Smits és mtsai rámutattak, hogy az endogén LH-hiány következtében a sárgatest

fennmaradásának támogatása elmarad [108]. A kezdeti próbálkozások, mely során a GnRH-agonista analóg alkalmazását a korai folliculáris fázisban abbahagyták [86], nem jártak eredménnyel, valószínűleg azért, mert a hypophysis működése a sárgatestfázisban más mechanizmusok által is gátolt. Herman és mtsai kimutatták, hogy a sárgatestműködést hCG alkalmazásával serkenteni lehet [109], így az 1990-es évek elejére ez vált a sárgatestfázis támogatásának általános kezelési módszerévé. Soliman és mtsai 18 randomizált tanulmány metaanalízisével készített felmérése hCG használata mellett magasabb terhességi arányról számolt be, mint progeszteron-pótlás alkalmazásakor [110]. Ennek ellenére a hCG alkalmazása és az OHSS kialakulása közötti kapcsolat miatt az évek során a hCG adását felváltotta a sárgatestfázisban történő progeszteron-pótlás [111].

Az agyalapi mirigy gonadotropin-elválasztásának a GnRH-antagonisták abbahagyását követően megfigyelhető gyors visszatérése miatt [47], kezdetben úgy gondolták, hogy a tüszőfázisban adagolt GnRH-antagonistát követően a sárgatestfázis hormonális támogatása nem szükséges. Albano és mtsai azonban rámutattak, hogy GnRH-antagonisták alkalmazása esetén a luteolysis idő előtt történik meg, így a sárgatestfázis hosszának csökkenésével a terhességi arány is csökken [112].

Újabb tanulmányok megerősítették, hogy a korai és középső sárgatestfázisban észlelhető LH-szintek a tüszőfázisban adott GnRH-antagonista analógok után is csökkentek. Beckers és mtsai tanulmányában attól függetlenül, hogy az ovulációt rekombináns LH-val, rekombináns hCG-vel vagy GnRH-agonista analóggal váltották ki kombinált GnRH-antagonista+gonadotropin ciklusokban, a hormonálisan nem támogatott sárgatestfázisban a luteolysis minden esetben kifejezettebb volt [113]. Egyre több bizonyíték lát napvilágot arra vonatkozóan, hogy petefészek-stimulációt követően a rövid sárgatestfázis a középideőben adott hCG szérumszintjének csökkenésére vezethető vissza, melyet az élettaninál magasabb ösztadiol- és progeszteron-szintek által gátolt hypophysisealis LH-szekréció tovább fokoz. A klinikai gyakorlatban ezért minden szuperovulációs ciklusban sárgatestfázis-támogatást alkalmazunk, mely a következő módokon biztosítható: A.) a sárgatestműködés hCG-vel való támogatásával vagy B.) szexuáliszteroidok (ösztrogén és progeszteron) adásával a sárgatest fázisban. Pirard és mtsai újabb vizsgálati eredménye alapján a sárgatestműködés támogatása GnRH-agonisták kisdózisú ismételt adásával is elérhető [114].

Az OHSS előfordulásának nagyobb kockázata miatt hCG adása ma már nem javasolt a sárgatestfázis támogatására, ezért progeszteronpótlás a választandó megoldás. A progeszteron-készítményeket vagy intramuscularisan (25-50 mg naponta) vagy intravaginálisan mikronizált progeszteron (300-600 mg/nap) vagy hüvelygél formájában (90 mg/nap) alkalmazzuk [115]. Pritts és Atwood metaanalízisükben mintegy 30 randomizált, sárgatestfázis-támogatás vizsgálatával foglalkozó tanulmányt elemeztek [116]. Ennek alapján az intramuscularis progeszteron minimálisan előnyösebbnek tűnt az orális vagy hüvelyen keresztüli felhasználásnál, azonban a gyakorlatban napenként adott intramuscularis injectiókkal járó fájdalom és kényelmetlenség a klinikai gyakorlatban a vaginális alkalmazást helyezi előtérbe. A kezelés időzítése és hossza még nem teljesen tisztázott. Andersen és mtsai randomizált kontrollált tanulmányukban nem találtak különbséget a terhesség kimenetelében attól függően, hogy a petesejtnyerést követően 14 napig vagy pozitív tesztet követően további 3 hétig alkalmazták-e a készítményt [117].

Figyelemre méltó Costea és mtsai tanulmánya, melyben koraterhességben végzett megfigyelésük alapján az IVF-kezelés újan létrejött terhességekben a progeszteronszintek jelentősen emelkedettek voltak a 9. terhességi hétig a spontán létrejött terhességekhez hasonlítva [118].

1.4.2. Az embrióminőségre kifejtett hatás

A stimulációs protokollok alkalmazásának kezdettől fogva célja, hogy egyidőben több petesejt nyerésével minél több beültethető praeembryo álljon rendelkezésre az embriótranszferhez. A klinikusok és embriológusok számára így legfőbb kihívássá az vált, hogy megtalálják a megfelelő módszert a legéletképesebb embriók kiválasztására.

A praeembriók életképességének és beágyazódási esélyének megítélésére ma már számos módszer áll rendelkezésünkre, amely alapulhat a praeembryo morfológiai, molekuláris vagy cytogenetikai vizsgálatán, esetleg a tüszőfolyadék, illetve az embriótenyésztő tápoldat biokémiai vizsgálatán is. Mindezen lehetőségek közül azonban a klinikai gyakorlatban csak olyan módszer alkalmazható, amely nem invazív, viszonylag gyorsan elvégezhető, nem csökkenti a praeembriók életképességét, objektív és olcsó. Úgy tűnik, hogy a jelenleg rendelkezésünkre álló módszerek közül leginkább a morfológiai vizsgálatok felelnek meg a fenti követelményeknek, bár ezen vizsgálatok nem minden

esetben tekinthetők objektívnek, különböző vizsgálók között jelentős különbségek lehetnek ennek megítélésében („inter-observer variability”).

Exogén gonadotropinokkal történő petefészekstimuláció különböző szinten érintheti az embriófejlődést. In vitro egér tanulmányokban a petefészek-stimuláció csökkentette [119] és késleltette [120] a kétsejtes embrió blastocystává való fejlődését. In vivo tanulmányok eredménye alapján is rosszabb a petesejt- és embrióminőség petefészek-stimulációt követően [121]. A petefészek-stimuláció késlelteti az implantációt és csökkentheti a vascular endothelial growth factor (VEGF) jelenlétét a beágyazódás helyén [119, 120]. Ezenfelül egérben a petefészek-stimulációt kapcsolatba hozták a magzati növekedés elmaradásával [122].

Emberben kevés adatunk van a petefészek-stimuláció embriók életképességére gyakorolt hatásáról. Számos olyan morfológiai elváltozás figyelhető meg a petesejtekben és embriókban, melyek kialakulásának okait, előfordulási gyakoriságukat és a petefészek-stimuláció közötti összefüggést még nem vizsgálták, vagy a rendelkezésre álló vizsgálati eredmények ellentmondásosak. Valbuena és mtsai egy kis esetszámú in vitro tanulmánya alapján a magas ösztradiolszintek direkt toxikus károsító hatást fejtenek ki az osztódó embrióra [123]. Ennek ellenére Ng és mtsai vizsgálata alapján a petefészek-stimulációra túlzott választ mutató nők csoportjában a petesejt- és embrióminőségre nem volt negatív hatással a petefészek-stimuláció [124]. Ziebe és mtsai retrospektív tanulmányukban az embriók minőségét természetes illetve stimulált ciklusokban hasonlították össze: nem találtak különbséget az embriók között azok minőségben illetve osztódási potenciáljában [125].

2. Célkitűzések

A stimulációs kezelések klinikai eredményességének egyik meghatározója a petesejtek és az embriók minőségére kifejtett hatásuk. Az IVF-kezelések során alkalmazott petefészek-stimulációs protokollok jelentősen befolyásolhatják a nyert petesejtek számát és minőségét, a megtermékenyülési arányt, az embriók minőségét és az embriófejlődés dinamikáját, a fagyasztásra alkalmas embriók számát és a klinikai terhességi- és élveszülési arányt. A petefészek-stimulációs protokollok értékelése a kezelések összetett volta miatt csak pontosan vezetett és megtervezett adatbázis segítségével végezhető el.

Ezek alapján tudományos munkámban az alábbi célok elérését és az alábbi kérdések megválaszolását tűztem ki célul:

1. Az IVF-kezelések klinikai és embriológiai adatának nyilvántartására és feldolgozására egy elektronikus adatbázist hozok létre, melynek segítségével elemzem és értékelem az Asszisztált Reprodukciós Osztály működésének első 15 évében elvégzett **összes** szervezeten kívüli megtermékenyítés **kezelés klinikai mutatóit** (indított ciklusok, petesejtnyerések és embrióbeültetések száma, klinikai terhességi- és élveszülési arány, klinikai terhességek fogamzás és életkor szerinti megoszlása, terhességek kimenetele).
2. Összehasonlítom a GnRH-antagonista **cetorelix kétféle adagolási protokollját** (egyszeri vs. többszöri adagolás) az idő előtti LH-csúcs megelőzése, illetve az IVF-kezelés klinikai eredményessége szempontjából.
3. Meghatározom a kombinált **GnRH-agonista vagy -antagonista** analóg + gonadotropin stimulációs protokollok **klinikai eredményességét** (gonadotropin stimuláció hossza, nyert-, érett-, és megtermékenyült petesejtek száma, klinikai terhességi arány, élveszülési arány).
4. Megvizsgálom, hogy a **GnRH-agonista és a GnRH-antagonista** prokollok hogyan befolyásolják a **petesejtek** és az **embriók** morfológiai **jellemzőit**: a perivitellinális tér méretét, a cytoplasmában előforduló szemcsék és vacuolumok jelenlétét. Megvizsgálom, hogy az alkalmazott GnRH-analóg kezelés milyen hatással van a megtermékenyülésre, az embriók fejlődési dinamikájára és a kezelés kimenetelére.
5. Megvizsgálom, hogy a petefészek-stimulációra alkalmazott **gonadotropin készítmények** (vizeletből származó vs. rekombináns) hogyan befolyásolják a

petesejtek és az **embriók** morfológiai **jellemzőit**: a perivitellinális tér méretét, a cytoplasmában előforduló szemcsék és vacuolumok jelenlétét. Megvizsgálom, hogy a gonadotropin készítmény megválasztása milyen hatással van a megtermékenyülésre, az osztódásra, a praeembriók morfológiájára és a klinikai terhességi és élveszülési arányra.

3. Módszerek

3.1. Adatgyűjtés és a vizsgálatok felépítése

Tudományos munkámban a Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika Asszisztált Reprodukciós Osztályán 1994-2008 között végzett in vitro fertilizációs kezelések során gyűjtött adatokat dolgoztam fel. A klinikai és embriológiai adatok részletes elektronikus rögzítésével az osztályunkon elvégzett IVF-kezelések mintegy 300.000 adata állt rendelkezésemre retrospektív vizsgálataimhoz.

3.1.1. Klinikai paraméterek vizsgálata

Elemeztem az Asszisztált Reprodukciós Osztály fennállásának 15 éve (1994-2008) alatt elvégzett kezelések klinikai paramétereit: a petefészek-stimulációk, petesejtnyerések és nyert petesejtek, embrióbeültetések és beültetett/fagyasztásra kerülő embriók, valamint a létrejött terhességek és ezekből származó szülések számát. Vizsgáltam a megtermékenyülési, klinikai terhességi és élveszülési arányt (life birth delivery rate).

3.1.2. GnRH-antagonista cetorelix különböző adagolási protokoll szerinti alkalmazásának összehasonlítása

1999 szeptembere és 2001 márciusa között 37 betegnél alkalmaztunk kombinált GnRH-antagonista (cetorelix) + gonadotropin stimulációt egy nyílt, prospektív, multicentrikus, fázis III. tanulmány részeként. Minden beteg életkora 18-39 év között volt, a részvétel további feltétele intact uterus és legalább egy működő petefészek; 4-nél kevesebb korábbi IVF-ET ciklus; <10 U/L bazális FSH-érték volt. Részvételből kizáró okként szerepelhetett polycystás ovarium szindróma (PCOS), III/IV. stádiumú endometriosis, korábbi stimulációra adott gyenge reakció és sárgatest-elégtelenség fennállása. 21 betegnél a többszöri adagolású rögzített protokollt, 16 esetben az egyszeri adagolási módot alkalmaztuk. Egy betegnél a tüszőérés nem érte el az ovulcióindukcióhoz szükséges mértéket a 3 mg-os adag beadását követően 4 napon belül, ezért ő az első injekció utáni 5. és 6. napon egy-egy további 0,25 mg-os injekciót kapott.

3.1.3. GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálat

Eset-kontroll vizsgálatomban az Asszisztált Reprodukciós Osztályon 2001 október és 2008 december között végzett kombinált GnRH-agonista- vagy GnRH-antagonista analóg+gonadotropin stimulációval végzett kezelések szerepeltek. A vizsgálatban minden beteg csak első IVF-kezelésével vett részt, a két csoportot úgy választottam meg, hogy azok csak egy tulajdonságukban, a stimulációs protokollban alkalmazott GnRH-analóg készítményben különbözzenek egymástól. A fent említett időszakban 102 kombinált GnRH-antagonista + gonadotropin kezelést végeztünk a beteg első IVF-kezelési ciklusában. A kezdetben 102 fős betegcsoportból kizártam 2 beteget, mert esetükben preimplantációs genetikai diagnosztikát (PGD) alkalmaztunk, mely befolyásolta volna az embrióminőségre vonatkozó paramétereket. Az így maradt 100 GnRH-antagonista kezeléshez a GnRH-agonista kontroll-csoport 100 kezelési ciklusát úgy választottam meg, hogy a két csoport betegeinek átlagéletkora, testtömegindexe és bazális FSH-koncentrációja között ne legyen jelentős különbség és a két csoport betegeinek kezelési javallatai megegyezzenek.

3.1.4. HP-FSH – recFSH prospektív randomizált tanulmány adatainak összehasonlítása

Prospektív, randomizált, kontrollált, vizsgáló-vak, multicentrikus tanulmányunk célja a vizeletből származó nagymértékben tisztított (HP-FSH, Fostimon, IBSA) és a rekombináns follitrophin-alfa (recFSH, Gonal-F, EMD Serono, Switzerland) gonadotropin készítmények összehasonlítása volt. A vizsgálat 5 Nyugat-Európai helyszínen és klinikánkon történt. A tanulmány kezdete előtt az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásügyi Bizottság (ETT-TUKEB) engedélyét kértük és minden önkéntes szóbeli és írásbeli tájékoztatásban részesült, majd írásbeli beleegyező nyilatkozatot töltött ki. A petesejt- és embrióminőség vizsgálatára szolgáló adatok gyűjtése és feldolgozása nem volt része az eredeti tanulmánynak, azokat retrospektív módon külön elemeztem. A jelen vizsgálatban közölt adatok csak a Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika Asszisztált Reprodukciós Osztályán történt kezelések adatait tartalmazzák.

3.1.4.1. *A tanulmányban való részvétel feltételei*

A tanulmányban azon önkéntesek vehettek részt, akiknél 2003 február és 2005 decembere között az andrológiai faktor súlyosan pozitív volta miatt ICSI-vel kiegészített IVF-kezelést

végeztünk. A részvétel további feltételei a 18-39 év közötti életkor, 19–30 kg/m² közötti body mass index (BMI), kórelőzményben kevesebb, mint 3 korábbi IVF-kezelés, a tanulmány kezdete előtt 3 hónapon belül normális petefészek-működés (bazális FSH érték <10 IU/L) és normális vérkép- és máj-, vesefunkciós értékek voltak. Nem vehettek részt a vizsgálatban petesejt-adományozással kiegészített vagy fagyasztott embrió beültetésével járó IVF-kezelések, korai petefészek-elégtelen vagy rosszul reagáló nők (amennyiben korábbi IVF-kezelésüknél >225 IU kezdő FSH dózisonál több gonadotropint igényeltek, vagy 3-nál kevesebb petesejt nyerése történt). Szintén kizártuk azon betegeket, akiknél 20 mm-nél nagyobb petefészekcysta vagy ismeretlen eredetű vérzés állt fenn, kezeletlen pajzsmirigy/mellékvesekéreg betegségük volt, rosszindulatú daganatban szenvedtek vagy a máj- vagy vesefunkciójuk jelentősen romlott.

3.1.4.2. *Randomizáció*

Hosszú protokoll szerinti desensitizációt követően a betegeket HP-FSH vagy recFSH csoportba osztottuk egy számítógép által generált randomizációs lista segítségével. Mindkét csoportba 35 beteg került. Bármely vészhelyzet esetére, melynél az adott gyógyszerelés pontos ismerete szükséges lett volna, lezárt borítékok álltak rendelkezésre, melyek a randomizációs szám mellett a beteg által kapott készítmény nevét tartalmazták.

3.2. Az alkalmazott petefészek-stimulációs protokollok

Petefészek-stimuláció során minden esetben kombinált GnRH-agonista vagy antagonistá + gonadotropin stimulációt alkalmaztunk.

3.2.1. GnRH-analóg kezelés

3.2.1.1. *Kombinált GnRH-agonista + gonadotropin hosszú protokoll*

Hosszú protokoll alkalmazása során a hypophysis gonadotropin termelésének reverzibilis felfüggesztése (desensitizatio) céljából a nőbetegek az IVF-kezelést megelőző menstruációs ciklusuk sárgatest-fázisának közepétől (20. ciklusnap) GnRH-agonista kezelésben részesültek. A kezelés megkezdése előtt ultrahangvizsgálattal kizártuk petefészekcysta jelenlétét. Az 1994-1996 kezdeti időszakban alkalmazott 3x300 µg intranasalis busarelin-spray kezelésből (Suprefact, Hoest, Frankfurt, Németország) 1997-től 0,1 mg/nap subcutan triptorelin injekció (Decapeptyl®; Ferring, Kiel, Németország) kezelésre térünk át. Az agonista készítményt mindaddig alkalmaztuk, míg a szérum E₂

érték 50 pg/ml, az LH érték pedig 5 U/l alatti értékre nem csökkent. Amennyiben a triptorelin 10-16 napon keresztüli adását követően végzett első kontrollvizsgálaton nem teljesültek ezen kritériumok, a GnRH-agonista előkezelést 7 nappal meghosszabbítottuk. Megfelelő laboratóriumi értékek esetén gonadotropin stimulációt kezdtünk és a GnRH-agonista készítményt az ovulációinductio napjáig folytattuk.

3.2.1.2. *Többszöri dózisú flexibilis kombinált GnRH-antagonista + gonadotropin kezelés*

A többszöri dózisú GnRH-antagonista flexibilis protokoll szerinti kezelés során a petefészek-stimuláció 5. napjától vagy amikor a vezető tüsző a 14 mmes átmérőt elérte, illetve a szérum E₂ meghaladta a 300 pg/ml értéket, napi 0,25 mg cetorelix (Cetrotide[®]; Serono, Róma, Olaszország), vagy ganirelix (Orgulatan[®], Organon, Oss, Hollandia) kezelésre került sor az ovulációindukció napjáig. A cetorelix kétféle protokoll szerinti adagolásának vizsgálatok a GnRH-antagonista kezelést minden esetben a stimuláció 5. napján kezdtük el (ún. többszöri adagolású rögzített protokoll).

3.2.1.3. *Egyszeri dózisú kombinált GnRH-antagonista + gonadotropin kezelés*

A gonadotropin-stimuláció 7. napján egyszeri 3 mg cetorelix (Cetrotide[®]) subcutan beadására került sor. Amennyiben ezt követően a tüszőrepedés kiváltására nem került sor 96 órán belül, naponta további 0,25 mg cetorelix beadását végeztük az ovulációindukció napjáig.

3.2.2. Gonadotropin-stimuláció

Hosszú protokoll esetén a desensitatio igazolásakor, kombinált GnRH-antagonista + gonadotropin protokollok esetében a menstruációs ciklus 2. vagy 3. napján indítottuk a gonadotropin kezelést. Egy stimulációs cikluson belül minden esetben ugyanazt a gonadotropin készítményt alkalmaztuk a teljes stimulációs időszakon át. A gonadotropin stimuláció 5. vagy 6. napjától 1-2 naponta ultrahang-vizsgálattal ellenőriztük a fejlődő tüszők számát és méretét, valamint immunoassay segítségével meghatároztuk a szérum E₂ szintet. Az ezt követő 1-2 napon szükséges gonadotropin mennyiséget ezen ismeretek alapján határoztuk meg. A gonadotropin-kezelést minden esetben az ovulációindukciót megelőző napon hagytuk abba.

Az Asszisztált Reprodukciós Osztály 15 éves működése során alkalmazott gonadotropin készítményeket az 1. táblázatban foglaltuk össze.

I. Urogonadotropinok	II. Rekombináns gonadotropin készítmények
1. hMG készítmények - Merional [®] , IBSA - Humegon [®] , Organon - Menogon [®] , Ferring	- Gonal-F [®] ; Serono
2. Tisztított hMG készítmény - Menopur [®] , Ferring	
3. FSH készítmény - Metrodin [®] , Serono	
4. Tisztított FSH készítmény - Fostimon HP [®] , IBSA	

1. táblázat: Kontrollált petefészek-stimulációra alkalmazott gonadotropin-készítmények az Asszisztált Reprodukciós Osztály 15 éves működése során. Jelmagyarázat: hMG: humán menopausalis gonadotropin, FSH: folliculus stimuláló hormon

3.2.2.1. *GnRH-antagonista cetorelix különböző adagolási protokoll szerinti alkalmazásának összehasonlítása*

A petefészek-stimuláció első 4 napján napi 2 ampulla hMG készítményt (Humegon[®] vagy Menogon[®]) alkalmaztunk. A többszöri adagolási séma szerint kezelt betegeknél a stimuláció 5. napjától ezt napi 0,25 mg cetorelix-szel (Cetrotide[®]), az egyszeri adagolási mód alkalmazása esetén a stimuláció 7. napján 3 mg cetorelixszel egészítettük ki a 3.2.1.3. fejezetben említett módon.

3.2.2.2. *GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálat*

A GnRH-analógok összehasonlításakor a petefészek kontrollált túlstimulációját hMG és HP-hMG (Menogon, Merional, Menopur) vagy HP-FSH (Fostimon HP) készítmények egyénre szabott stimulációs protokoll szerinti adagolásával értük el. A stimuláció során a többszörös tüszőérés elérése céljából hosszú protokoll szerinti GnRH-agonista + gonadotropin vagy többszöri dózisú flexibilis GnRH-antagonista + gonadotropin protokollt alkalmaztunk.

3.2.2.3. *HP-FSH – recFSH prospektív randomizált vizsgálat*

A gonadotropin készítmények összehasonlító vizsgálatában minden résztvevő 225 IU FSH-t (HP-FSH: Fostimon HP[®] vagy recFSH: Gonal-F[®]) kapott az első öt stimulációs napon, az FSH adagjának megváltoztatására csak ezt követően kerülhetett sor. Minden ciklus során hosszú desensitizációs kombinált GnRH-agonista + gonadotropin protokollt alkalmaztunk.

3.2.3. Ovulációindukció

A petefészek-stimuláció végső fázisát (ovulációindukció) bolusban adott intramuscularis (im.) 5000-10000 NE hCG injekcióval váltottuk ki (Profasi[®], Serono vagy Pregnyl[®], Organon vagy Choragon[®], Ferring). Az ovulációindukció feltétele volt, hogy legalább egy tüsző átmérője nagyobb legyen mint 18 mm és legalább 3 tüsző elérje a 15-16 mm-es átmérőt, valamint az ösztradiol-koncentráció magasabb legyen mint 200-300 pg/ml/növekvő tüsző. Ovulációindukciót követően 36 órával végeztük a petesejtnyerést.

3.2.4. A sárgatestfázis támogatása

A sárgatestfázis támogatására 3x200 mg/nap micronisalt progeszteront (Utrogestan; Besins-Iscovesco Pharmaceuticals, Paris, France) alkalmaztunk minden stimulációs protokoll esetén intravaginalisan az embrióbeültetés napjától a terhesség elmaradásának igazolásáig, illetve terhesség létrejötté esetén a terhesség 12. hetéig.

3.3. Petesejtnyerés, spermapreparálás, megtermékenyítés

A hCG injectio adása után 36 órával került sor az ultrahang vezérelt transvaginalis tüszőleszívásra. A tüszőfolyadékban talált petesejteket 10% anyai szérummal (HS; human serum) kiegészített Whittingham-féle T₆ (T₆H) tápoldatban [126] vagy IVF-tápoldatban (IVF-20, IVF-100; Vitrolife, Kungsbacka, Svédország) inkubáltuk a megtermékenyítésig. Az inkubációt a petesejtnyeréstől a praeembryók beültetéséig 37C°-on, 96%-os relatív páratartalom és 5% CO₂ szint biztosítása mellett végeztük.

A meddő pár férfi tagja spermáját a spermiumszámtól, motilitástól függően sűrűség gradiens centrifugálás vagy „felúsztatásos” módszer (swim-up) segítségével dolgoztuk fel. Azoo-, necrozoo- vagy súlyos cryptozoospermias betegeknél a Semmelweis Egyetem Urológiai Klinikáján herebiopsia történt (testicular sperm extraction; TESE), a mintákat a

vizsgálatot követően későbbi IVF-kezelés céljából lefagyasztottuk. A lefagyasztott hereszövetet a petesejtnyerés napján felolvasztottuk, majd collagenase emésztést, mosást és centrifugálást követően nyert hímivarsejteket használtuk fel a petesejtek megtermékenyítéséhez.

A petesejtek megtermékenyítésére a petesejtnyerést követő 3-8 órán belül került sor. A megtermékenyítés módjáról az ondóminta feldolgozását követően, annak eredménye, illetve a korábbi spermavizsgálatok és IVF-kezelések eredménye alapján döntöttünk. Hagyományos *in vitro* fertilizációs kezelést végeztünk akkor, ha az ondóminta feldolgozását követően több mint 1 millió progresszíven mozgó hímivarsejt állt rendelkezésünkre, és a feldolgozott spermamintában a hímivarsejtek legalább 75-80%-a jó mozgékonyt mutatott. A petesejtek megtermékenyítését ebben az esetben a hímivarsejtek morfológiájától, valamint a nőbeteg életkorától függően 100- 500.000 db/ml spermium-koncentrációjú fertilizációs médiummal végeztük. A petesejtek és hímivarsejtek együtt inkubálása a petesejtnyerés után 6 órával kezdődött, és másnap reggelig, kb. 14-18 órán át tartott.

A petesejtek mikromanipulációs módszerrel történő megtermékenyítését (intracytoplasmic sperm injection; ICSI) Palermo és mtsai által leírt módon végeztük 4-8 órával a petesejtnyerést követően [15]. ICSI kezelésre akkor került sor, ha az ondóminta feldolgozása során csak <1 millió progresszíven mozgó hímivarsejtet sikerült kinyernünk, valamint ha a normál morfológiájú spermiumok aránya a natív mintában kevesebb volt 4 %-nál. ICSI kezelést alkalmaztunk akkor is, ha 4 vagy annál kevesebb petesejtet nyertünk, vagy ha a betegnél korábban elvégzett hagyományos *in vitro* fertilizációs kezelésnél alacsony (<50%) megtermékenyülési arányt észleltünk.

3.4. A petesejtek morfológiai vizsgálata

Tekintettel arra, hogy a petesejtek morfológiai vizsgálatára csak a cumulus sejtek eltávolítása után van lehetőség, ezt a vizsgálatot csak ICSI módszerrel megtermékenyítésre kerülő petesejtek esetében végeztük.

A petesejtek érettségét a germinális vesiculum (GV) és az 1. sarkitest jelenléte jelzi. 1. sarkitest hiányában amennyiben GV látszódik, PI vagy GV petesejtről, amennyiben ez már nem látszódik, MI petesejtről beszélünk. Ezen utóbbiak megtermékenyítésének

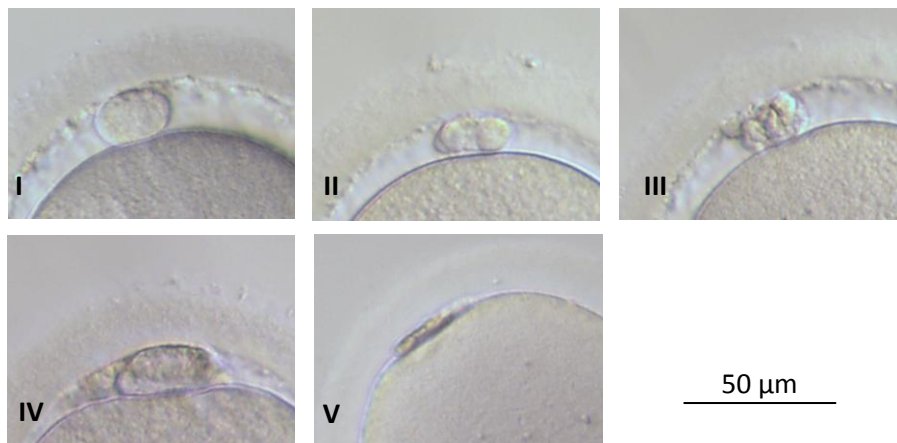
eredményessége elmarad az érett petesejtek megtermékenyülési arányától [127]. Azon petesejtek, amelyekben az 1. sarkitest már látható, érett (MII) petesejtek (9. ábra).



9. ábra: Érett (metafázis II.) petesejt
(dr. Fancsovits Péter felvétele)

3.4.1. Az 1. sarkitest morfológiájának vizsgálata

A sarkitest morfológiai jellemzői alapján a petesejteket az alábbi csoportokba soroltuk: (I) kerek vagy ovális, sima felszínű sarkitest; (II) kerek vagy ovális, szabálytalan felszínű sarkitest; (III) fragmentált vagy degenerált sarkitest; (IV) a szokásosnál lényegesen nagyobb sarkitest ($>20\ \mu\text{m}$); és (V) éretlen, a petesejtre sapkaszerűen ráboruló sarkitest (10. ábra/I-V). Jelen dolgozatunkban korábbi eredményeink alapján [8] az utóbbi három csoportba tartozó sarkitesteket tekintettük rendellenesnek.



10. ábra: Az 1. sarkitest morphológiája. I) enyhén ovális, sima felszínű sarkitest; II) enyhén ovális, egyenetlen felszínű sarkitest; III) fragmentált sarkitest; IV) a szokásosnál nagyobb sarkitest; V) a petesejtre sapkaszerűen ráboruló sarkitest.

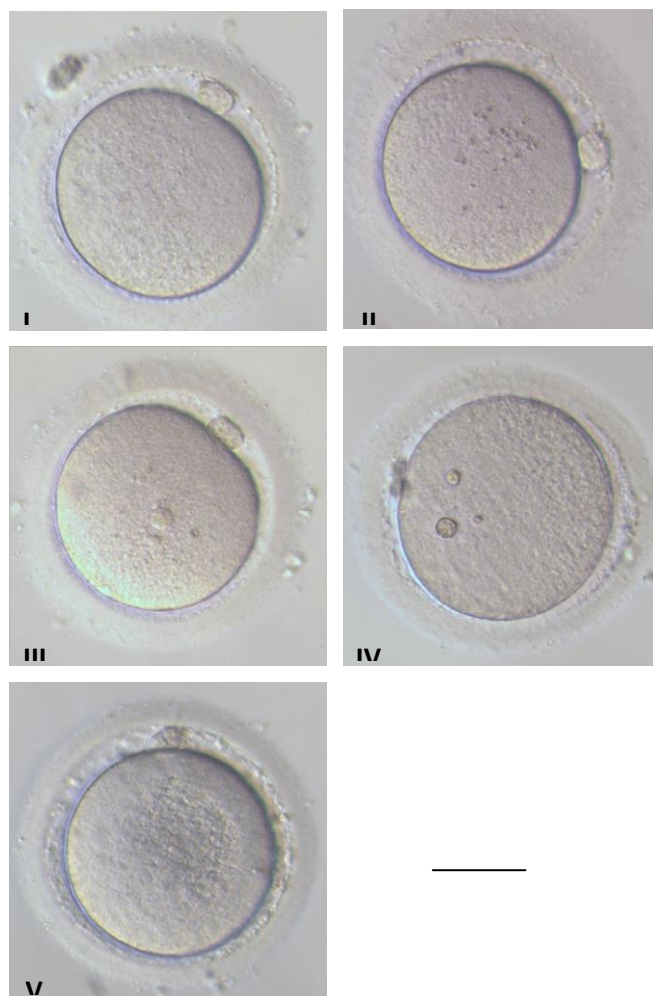
(dr. Fancsovits Péter nyomán)

3.4.2. A perivitellinális tér méretének vizsgálata

A zona pellucida és a petesejthártya közötti tér nagysága alapján a petesejteket három csoportba soroltuk: (I) $< 5 \mu\text{m}$, (II) $>5 \mu\text{m}$, de $<10 \mu\text{m}$; (III) $>10 \mu\text{m}$. Kóros nagyságúnak a $>10 \mu\text{m}$ perivitellinális teret tekintettük.

3.4.3. A cytoplasma szemcsézettségének vizsgálata

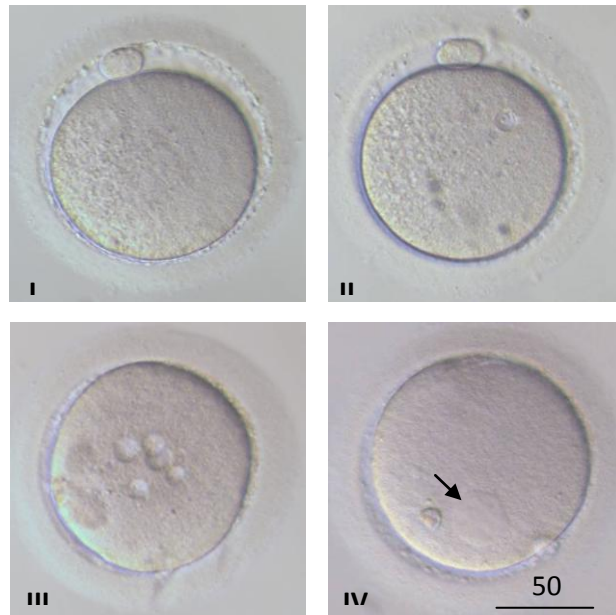
A petesejtek cytoplasmájában megfigyelhető granulumok alapján a 11. ábrán megfigyelhető csoportokba osztottuk a petesejteket, kórosnak a cytoplasmában jelenlévő fénytörő szemcséket vagy a kráterszerű szemcsézettséget tekintettük [128].



11. ábra: Petesejtek csoportosítása a cytoplasma szemcsézettsége alapján: I) szemcsézettség nélküli petesejt; II) sok apró ($< 5 \mu\text{m}$) szemcse; III) $5 \mu\text{m}$ -nél nagyobb méretű szemcse; IV) fénytörő szemcse (refractile body); V) kráterszerű szemcsézettség (dr. Fancsovits Péter nyomán)

3.4.4. A cytoplasmában megfigyelhető vacuolumok

A petesejtek cytoplasmájában megfigyelhető vacuolumok alapján a 12. ábrán megfigyelhető csoportokba osztottuk a petesejteket. Kóros elváltozásként értékeltük, ha jelentős mennyiségű vacuolumot vagy zsákocskaszerű képződményt tartalmazott a petesejt, mivel a petesejtekben megfigyelhető vacuolumok jelenléte alacsonyabb megtermékenyülési aránnyal társulhat [129].



12. ábra: Petesejtek csoportosítása a cytoplasmában megfigyelhető vacuolumok alapján. I) vacuolumot nem tartalmazó petesejt; II) kisebb méretű (<10 μm) vacuolum; III) jelentős mennyiségű vacuolum IV) zsákocskaszerű képződményt (↘) tartalmazó petesejt (dr. Fancsovits Péter nyomán)

3.5. A zygota vizsgálata

3.5.1. A megtermékenyülés ellenőrzése

A petesejtek megtermékenyülésének ellenőrzését a megtermékenyítés után 14-18 órával végeztük. Normálisan megtermékenyültnek tekintettük azokat a petesejteket, amelyek két előmagot tartalmaztak, ettől eltérő számú pronucleust tartalmazó petesejteket rendellenes megtermékenyülésűnek tekintettük. Amennyiben a petesejtben nem láttunk pronucleust, úgy azt a petesejtet nem megtermékenyültnek tekintettük.

3.5.2. A nucleolusok vizsgálata

A pronucleusok számának meghatározása mellett vizsgáltuk a normális nucleolus eloszlást mutató zigóták arányát. Normálnak tekintettük a magvacskák eloszlását abban az esetben, ha azok mindkét pronucleusban egyenletesen szétszórva vagy a két előmag találkozási

síkjában összerendezve helyezkedett el. Ezt osztályozhatjuk is 1-től 4-ig, ezt nevezzük ún. „Z-score” rendszernek. A normális (Z1-Z2) nucleolus eloslzást mutató zigóták később nagyobb eséllyel válnak morfológiailag jobb minőségű embrióvá [130, 131].

3.6. A korai praeembryo fejlődés vizsgálata

A megtermékenyítés időpontja után 20-28 órával végeztük el a korai praeembryo fejlődés vizsgálatát. A vizsgálat a pronucleusok meglétére, illetve hiányára, valamint az első osztódás bekövetkeztére irányult, és csak a szabályosan megtermékenyült (2PN) zygotákra vonatkozott. A megfigyelés alapján a zygotákat az alábbi három csoportba osztottuk. (I) pronucleus állapotú zygota (mindkét pronucleus tisztán látható); (II) egy sejtes zygota (a pronucleusok a cytoplasmában már nem láthatóak, de az első sejtosztódás még nem zajlott le); (III) két (esetleg több) sejtes praeembryo.

A első osztódást vizsgálhatjuk közvetve az előmagok (pronucleusok) eltűnésével (pronuclear breakdown, PNBD) [10], illetve közvetlenül a második sejt megjelenésével, mivel a két folyamat között eltelt idő viszonylag állandó, 3-4 óra [132]. Ismert, hogy a korai osztódást mutató (megtermékenyülés után 22-25 órán belül osztódó) embriók életképesebbek és nagyobb a beágyazódási arányuk [10, 133, 134]. Miután az előmagok eltűnése a II. és III. csoportban már egyaránt lezajlott, ezért a PNBD vizsgálata során ezen csoportokba tartozó zygotákat és praeembryókat, – függetlenül attól, hogy egy-, vagy több sejtesek – korai PNBD csoportba soroltuk (PNBD+), míg a 2 előmagot tartalmazó zygotákat a késői PNBD csoportba (PNBD–) soroltuk.

3.7. Az osztódó praeembryo morfológiai vizsgálata

Az osztódó praeembryók morfológiai vizsgálatára a megtermékenyítés utáni 2. és 3. napon került sor. Azoknál a kezeléseknél, ahol az embriótranszfert a 2. napon végeztük, a 3. napi morfológiai vizsgálatra értelemszerűen nem került sor. Tanulmányomban a második napi eredményeket használtuk fel, mivel a preembryók egy részét már a második napon beültetjük, így a harmadik napi eredmények így nem mutatnák megfelelően a vizsgált csoportok közötti különbségeket.

A vizsgálat a praeembryók sejtszámának és minőségének meghatározására irányult. A praeembryók minőségét Veeck által leírt módszer alapján határoztuk meg. A beágyazódási arány szempontjából kedvezőtlen többmagvú blasztomérák jelenlétét külön

feljegyeztük [128]. A 2. táblázat mutatja a praeembryók besorolását és a kategóriákhoz általunk rendelt pontértékeket.

Van Royen és munkatársai közleménye [135] alapján azokat az A és B minőségi kategóriába sorolt praeembryókat, amelyek a megtermékenyítést követő 2. napon ≥ 4 sejtesek, a 3. napon pedig ≥ 7 sejtesek voltak, „kiváló minőségű” praeembryóknak tekintettük.

Kategória	Blastomerák jellemzői	Fragmentáció mértéke	Morphologiai pont
A	Egyforma méretűek	nincs	4
B	Egyforma méretűek	<25%	3
C	Egyforma/eltérő méretűek	25-50%	2
D	Egyforma/eltérő méretűek	50-80%	1
E	Blastomera egyáltalán nem, vagy alig ismerhető fel	>80%	0

2. táblázat: Praeembryók morfológiai besorolása Veeck (1991) bírálati rendszere szerint [128]

3.8. Embrióbeültetés

3.8.1. Az embrióbeültetés időpontja

A praeembryók méhüregbe történő beültetésére a megtermékenyítést követő 2. vagy 3. napon került sor Wallace (SIMS Portex Ltd., Kent, UK) vagy TDT katéter (Laboratoire CCD, Paris, France) segítségével. A 3. napon végeztük az embriótranszfert, ha több beültethető praeembryo állt rendelkezésünkre, mint amennyit az adott beteg esetében beültethettünk, ellenkező esetben a beültetést a 2. napon végeztük.

3.8.2. A beültetett praeembryók száma

A beültethető praeembryók számát a hatályban lévő jogszabályoknak megfelelően a beteggel egyetértésben határoztuk meg. 2008 január 1. előtt három praeembryót ültettünk be minden esetben, amikor állt ennyi praeembryo rendelkezésünkre vagy ha a pár a beültetés előtt ezt külön kérte. Négy praeembryo beültetésére a házaspár erre vonatkozó írásos kérelme esetén akkor került sor, I) ha a nőbeteg életkora elérte a 36 évet vagy II) a betegnél korábban olyan IVF-ET kezelés történt, mely nem eredményezett klinikai

terhességet vagy III) a nőbetegnél korai petefészkek-kimerülés jelei mutatkoztak. 2008. január 1-től kezdődően elektív egyes/kettes embrióbeültetést (single/dual elective embryo transfer (eSET/eDET)) végzünk az alábbiak szerint: a nő 36 éves kora előtt az 1. vagy 2. IVF-ciklusban 1 vagy 2 embriót, 3. ciklustól kezdve 2 vagy 3 embriót ültetünk be, míg 36-39 éves kor között 2 vagy 3 embrió beültetése történik az embrió morfológiájától függően. 4 embrió beültetése kizárólag 40 éves kortól lehetséges.

3.8.3. A beültetésre kerülő praeembryók kiválasztása

A rendelkezésre álló praeembryók közül azok fejlődési állapota és morfológiai jellemzői alapján választottuk ki a legéletképesebbnek tűnő praeembryókat. A részletes petesejt-, zygota bírálat és korai praeembryofejlődés vizsgálatának eredményeit a beültetendő praeembryók kiválasztásánál nem vettük figyelembe. Legalább két normálisan megtermékenyült zygotából fejlődő, A, B vagy C minőségi kategóriába tartozó számfeletti praeembryo esetén a pár írásbeli kérésének megfelelően a praeembryók cryopreservációját végeztük: lefagyasztottuk és későbbi felolvasztás és beültetés céljából folyékony nitrogénben (-196 °C-on) tároltuk őket.

3.9. Az in vitro fertilizációs kezelések kimenetele

Terhesség létrejöttét vagy elmaradását az embrióbeültetést követő 10. és 14. nap között kétnapi különbséggel levett szérumminták β -hCG-szintjének meghatározásával igazoltuk. Biokémiai terhességet akkor állapítottunk meg, ha a két hCG-érték valamelyike elérte, vagy meghaladta a 25 NE/l-es szintet, de az egy héttel később végzett hüvelyi ultrahangvizsgálat során petezsákot nem tudtunk igazolni. Klinikai terhesség kritériumának a European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) ajánlása szerint a WHO és az International Committee for the Monitoring of ART (ICMART) definícióját tekintettük, mely ultrahangvizsgálattal kimutatott petezsák igazolását jelenti. Ebben az esetben a petezsákok számát is regisztráltuk, majd az ultrahangvizsgálatot egy héttel később megismételtük.

Klinikai terhességi arány számításakor a klinikai terhességek számát osztottam el az embrióbeültetések számával (a többes fogamzás vagy szimultán terhesség is egy terhességnek minősül). A beágyazódási arányt a beágyazódott praeembryók száma / a beültetett praeembryók száma alapján határoztam meg.

A terhességek nyomonkövetése a terhesek címére küldött kérdőívek feldolgozása alapján történt. Amennyiben a kérdőív nem érkezett vissza, telefonon történő megkeresést követően került sor az adatok egyeztetésére és ezzel párhuzamosan írásbeli dokumentáció beszerzésére.

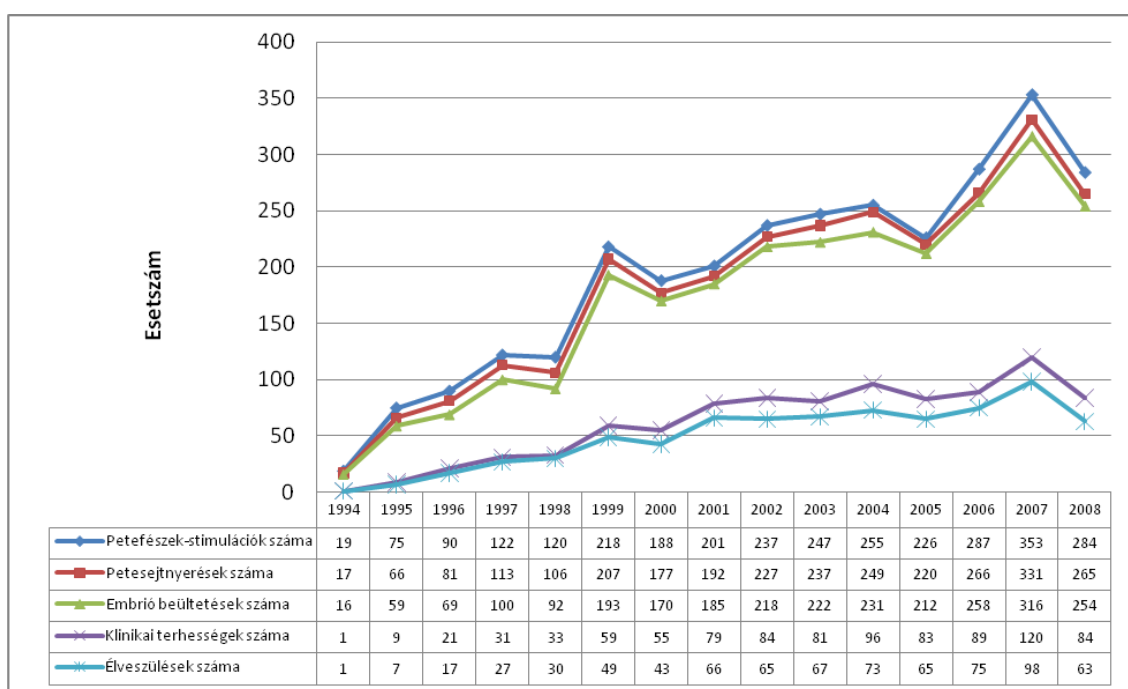
3.10. Az adatok statisztikai értékelése

Adataink statisztikai értékelését Statistica 8.0 számítógépes program (StatSoft Inc., Tulsa, USA) segítségével végeztem. A gyakorisági értékek (arányszámok) statisztikai analizéséhez Pearson- vagy McNemar-féle χ^2 -tesztet, a középértékek összehasonlításához Wilcoxon-féle rangösszeg vagy Student-féle T-próbát illetve Mann-Whitney-féle U-tesztet alkalmaztam. Esetszámtól függően a χ^2 -próbát Yates-féle korrekcióval egészítettem ki vagy Fisher exact tesztet használtam. A vizsgált csoportok közötti különbségeket $P < 0,05$ esetén tekintettem szignifikánsnak.

4. Eredmények

4.1. Az Asszisztált Reprodukciós Osztály fennállásának 15 éve alatt elvégzett IVF-kezelések klinikai eredményessége

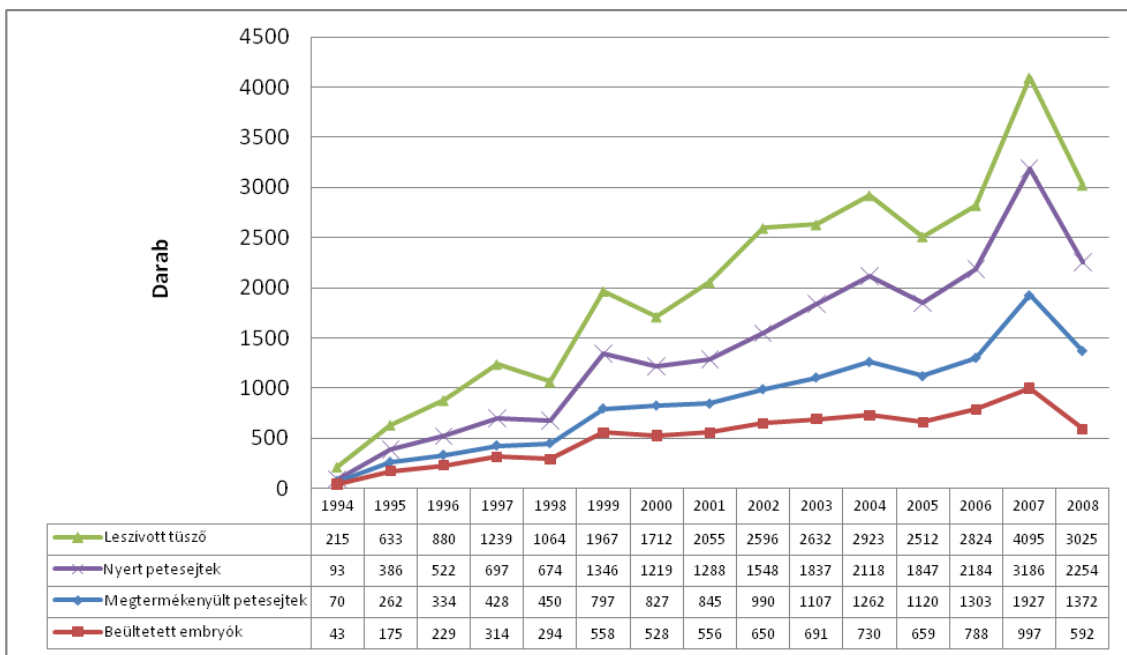
A létrehozott adatkezelő és -nyilvántartó program segítségével a klinikai mutatók bármely időintervallumban bármely szempont szerinti értékelése lehetővé vált. Klinikánkon a szervezeten kívüli megtermékenyítés kezelés kezdeti éveiben folyamatosan nőtt az évente elvégzett kezelések száma, 2001-től már évente 200 feletti IVF-ciklust indítottunk. Ezzel párhuzamosan alakult a létrejött terhességek és elveszülések száma is (13. ábra).



13. ábra Petefészek-stimulációk, petesejtnyerések, embrióbeültetések, klinikai terhességek és elveszülések száma 1994-2008 között végzett IVF-kezelések során

A leszívott tüszők, a nyert- és megtermékenyült petesejtek és a beültetett embriók száma évről-évre tükrözte a ciklusszámok változását (14. ábra).

Az ICSI-kezelések 1997-ben történő bevezetését követően az ezúton végzett megtermékenyítések aránya a 2000-es évektől 70-80% között változott (15. ábra).

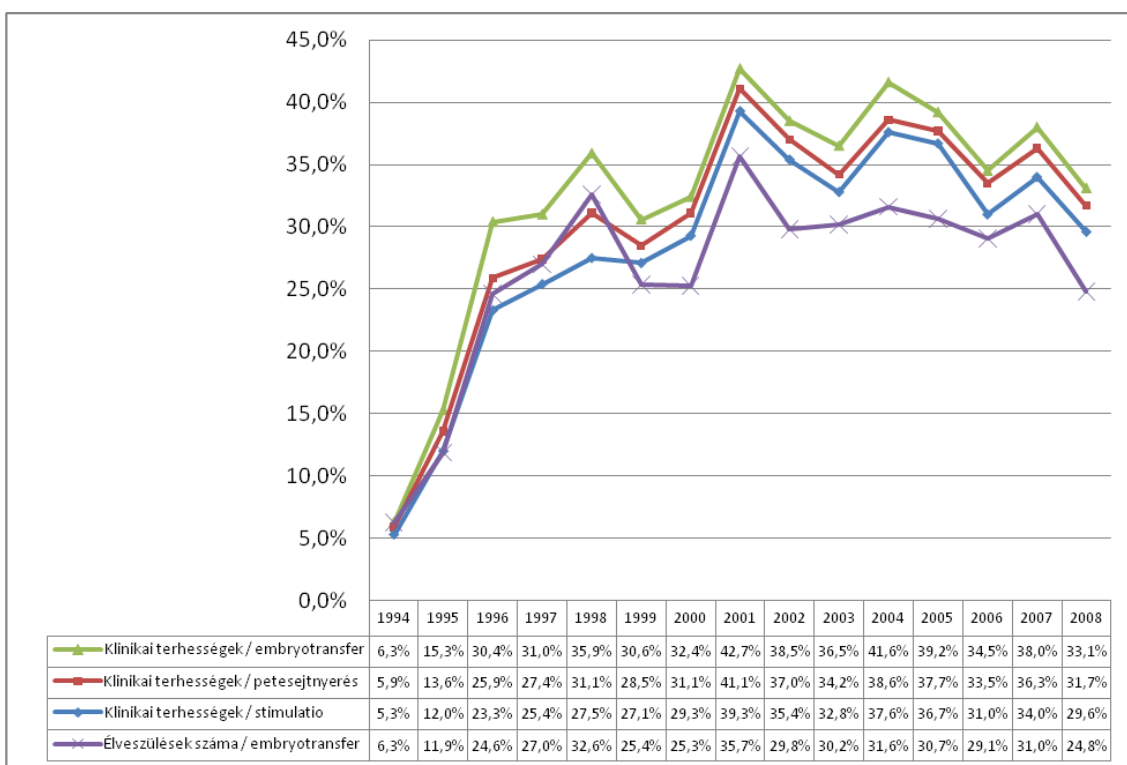


14. ábra Leszívott tüszők, nyert- és megtermékenyült petesejtek és beültetett embriók száma 1994-2008 között végzett IVF-kezelések során



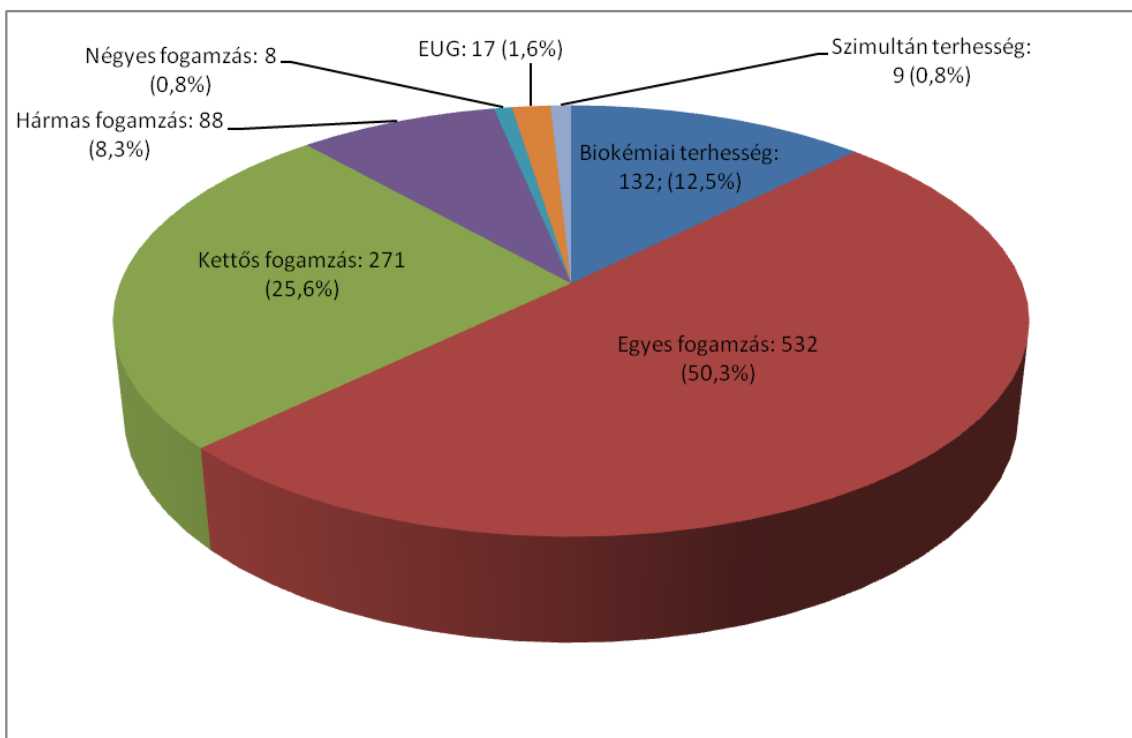
15. ábra Hagyományos IVF-ET és ICSI-vel kiegészített IVF-ET kezelések megoszlása a petesejtnyeréssel járó kezelésekben 1994-2008 között végzett IVF-kezelések során

A kezelések jellemzésére legáltalánosabban használt eredményességi mutató, a klinikai terhességek embrióbeültetésre vonatkoztatott aránya az első két évet követően minden évben meghaladta a 30%-ot, azonban egyes években megközelítette, sőt túl is szárnyalta a 40%-os értéket. A klinikai terhességi aránnyal párhuzamosan az elveszülési arány 24,6-35,7% között mozgott ezekben az években (16. ábra).

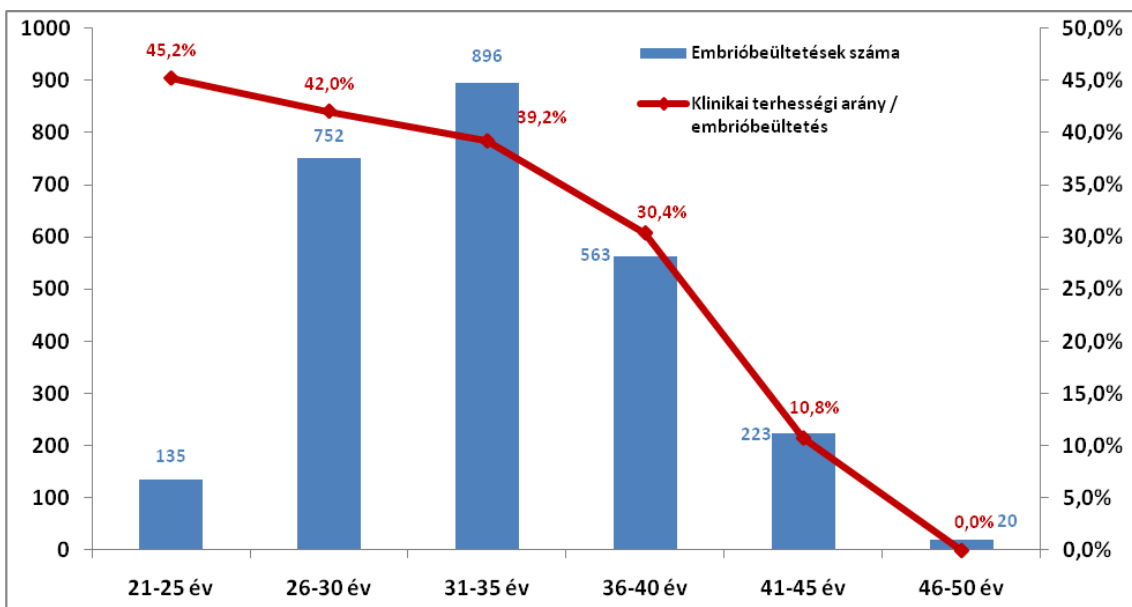


16. ábra Klinikai terhességi és elveszülési arányok osztályunk 15 éves működése során

Az összes létrejött terhesség 12,5%-a biokémiai terhességnek bizonyult, a klinikai terhességek közül egyes fogamzást 50,3, kettőst 25,6, hármast 8,3%-ban állapítottunk meg. 15 év során 8 esetben (0,8%) jött létre négyes fogamzás, 17 esetben (1,6%) méhen kívüli terhesség. 9 terhesség (0,8%) a nyomonkövetés során szimultán terhességnek (egy időben fennálló méhen belüli és méhen kívüli terhesség) bizonyult (17. ábra).



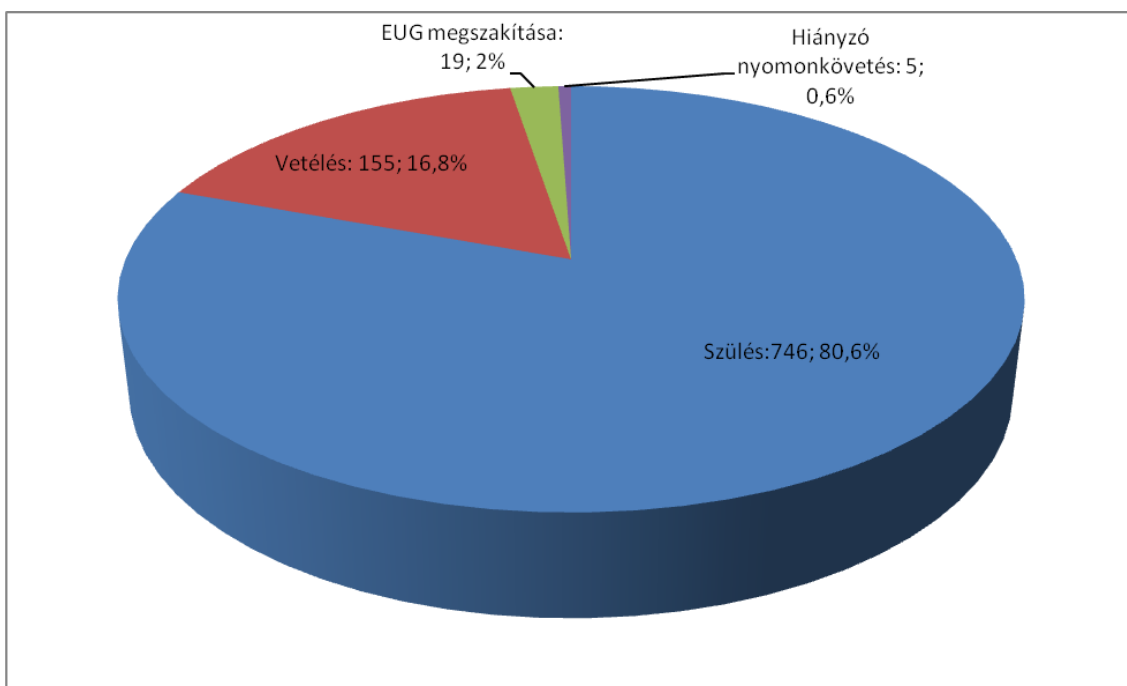
17. ábra 1994-2008 között IVF-kezelések útján létrejött terhességek megoszlása fogamzás alapján



18. ábra 1994-2008 között IVF-kezelések útján létrejött klinikai terhességek életkor szerinti megoszlása

Az IVF-kezelések életkor szerinti megoszlásánál látható, hogy a legtöbb kezelést 31-35 év között lévő nőknél végeztük. A klinikai terhességi arány a nőbeteg életkorának előrehaladtával folyamatosan csökkent: a 36 éves kor előtt megfigyelt 40%-ot meghaladó értékről 41-45 éves kor között 10,8%-ra csökkent, 45 év felett egyetlen esetben sem jött létre klinikai terhesség (18. ábra).

A klinikai terhességek 80,6%-a végződött szüléssel, 16,8%-a vetéléssel, 2,0%-ban a méhen kívüli terhesség műtéti megoldására került sor. A klinikai terhességek kimenetele a vizsgált 15 éves időszakban csak 5 esetben (0,6%) maradt ismeretlen. (19. ábra)



19. ábra Klinikai terhességek kimenetele 1994-2008 között végzett IVF-kezelések során

4.2. GnRH-antagonista cetrorelix kétféle adagolási protokoll szerinti alkalmazásának összehasonlítása

A GnRH-antagonisták klinikai bevezetésekor azt vizsgáltuk meg, hogy azok egyszeri, illetve többszöri adagolása hogyan befolyásolja az LH-csúcs kialakulását és kezelés eredményességét. A GnRH-antagonista cetrorelix két adagolási sémája szerint meghatározott két kezelési csoport a résztvevő betegek életkorának megoszlása szempontjából nem tért el egymástól. A spontán menstruációs ciklusban, a stimuláció előtt illetve alatt mért hormonértékek tekintetében nem találtunk szignifikáns különbséget a két csoport között, csakúgy, mint a stimuláció hosszát, a felhasznált gonadotropinok mennyiségét illetően sem. A szérum ösztadiolszintje hasonlóképpen alakult a két csoportban. Idő előtti LH-csúcs egyik csoportban sem jelentkezett, kezelést emiatt nem kellett megszakítanunk egyetlen esetben sem. Ovulációindukcióra és petesejtnyerésre valamennyi betegnél sor került. A cetrorelix 0,25 mg-os napi dosisával kezelt csoport egyik tagjánál nem sikerült petesejtet nyernünk. (3. táblázat)

A két csoport nem különbözött szignifikánsan a tüszőpunkció során nyert petesejtek számát, azok megtermékenyülési arányát, valamint a létrejött és a beültetett praeembryók számát tekintve. Annak ellenére, hogy a többszöri adagolási séma szerinti kezelésben részesült csoportban magasabbnak találtuk az embrióbeültetésre vonatkoztatott klinikai terhességi arányt (47% vs. 19%), a kis esetszám mellett ez a különbség nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét. A többszöri cetrorelixet kapott csoportban egy kúrterhesség fordult elő, amely miatt az érintett oldali petevezeték el kellett távolítanunk. Ugyanezen csoport egy másik tagjánál a terhesség spontán vetéléssel végződött az 5. héten, a többi terhesség érett szüléssel végződött. A 3 mg-os dosis alkalmazásával végzett stimulációt követő IVF-kezelésekből egy egyes- és egy ikerszülés történt, míg a harmadik klinikai terhesség szimultán extrauterin és intramuralis graviditásnak bizonyult és ennek műtéti megoldásával ért véget.

		Többszöri adagolás n=21 (0,25 mg/nap)	Egyszeri adagolás n=16 (3 mg)	P
Életkor (év) ^a		32 (24–47)	31 (25–46)	NS
A meddőség oka	kürt eredetű ^b	4 (19%)	3 (19%)	
	andrologiai ^b	10 (48%)	9 (56%)	
	összetett ^b	5 (24%)	4 (25%)	
	ismeretlen ^b	2 (10%)	0 (0%)	
Gonadotropinstimuláció időtartama (nap) ^a		9 (6–12)	9 (7–12)	NS
Az alkalmazott gonadotropin mennyisége (ampulla) ^a		30 (15–144)	19,5 (13–110)	NS
Serum-FSH-szint a spontán ciklus 3. napján (NE/l) ^a		6,4 (2,0–10,4)	5,7 (2,2–10,1)	NS
Serum-FSH-szint a gonadotropinstimuláció 1. napján (NE/l) ^a		5,8 (3,6–9,1)	5,8 (4,0–8,0)	NS
Serum-LH-szint a gonadotropinstimuláció 1. napján (NE/l) ^a		4,2 (1,9–9,8)	4,1 (2,1–7,7)	NS
Serumösztadiol-szint a hCG-adás napján (pg/ml) ^a		1388 (756–3771)	1500 (1159–2668)	NS
Nyert petesejtek száma ^a		5 (0–13)	5,5 (1–11)	NS
Megtermékenyülési arány ^b		80% (0%–100%)	78% (25%–100%)	NS
Praeembryók száma ^a		4 (0–12)	3,5 (1–8)	NS
Beültetett praeembryók száma ^a		3 (0–4)	3 (1–4)	NS
Klinikai terhességek száma (% embriótranszferre vonatkoztatva) ^b		8 (47%)	3 (19%)	NS

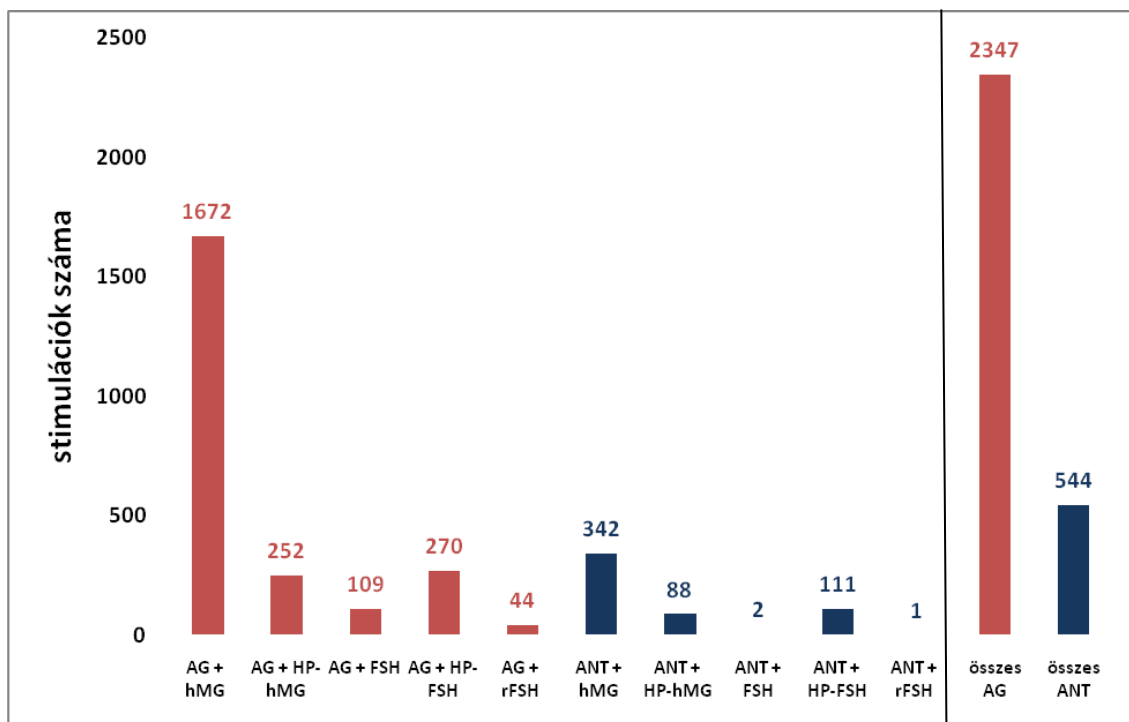
3. táblázat: A GnRH-antagonista cetorelix kétféle adagolási séma szerinti alkalmazásával és gonadotropinnal végzett petefészek-stimulációk klinikai és endokrinológiai paramétereinek összehasonlítása.

^a medián, zárójelben a minimum és maximum érték; Mann–Whitney U teszt;

^b esetszám, zárójelben a százalékos arány; Yates-féle korrekcióval kiegészített χ^2 -próba)

4.3. Kombinált GnRH-agonista+gonadotropin és GnRH-antagonista + gonadotropin stimulációk klinikai mutatóinak összehasonlítása

A vizsgált 15 év során 2922 IVF-kezelést indítottunk. A további elemzésekben ebből azt a 2891 esetet dolgoztam fel, melyben a petefészek-stimulációt kombinált GnRH-agonista + gonadotropin vagy GnRH-antagonista + gonadotropin kezeléssel végeztük (20. ábra). 2726 esetben (94,3%) került sor petesejtnyerésre, 2572 esetben embrióbeültetésre (89,0%). A létrejött 921 klinikai terhesség indított ciklusokra vonatkoztatva 31,9%, petesejtnyerésekre vonatkoztatva 33,8%, embrióbeültetésekre vonatkoztatva 35,8%-os terhességi aránynak felel meg. A 743 szülés ugyanezen viszonyítási pontokra 25,7%, 27,3% és 28,9%-os élveszülési arányt jelent.



20. ábra 1994-2008 között IVF-ET kezelések során alkalmazott petefészek-stimulációk megoszlása az Asszisztált Reprodukciós Osztályon (AG: GnRH-agonista; ANT: GnRH-antagonista; hMG: humán menopausalis gonadotropin; FSH: follikulus stimuláló hormon; HP: highly purified; rFSH: rekombináns FSH)

GnRH-agonistákkal kombinált kezelést összességében négyszer gyakrabban végeztünk, mint GnRH-antagonistákkal (20. ábra). Stimuláló készítményként az esetek több, mint

felében hMG készítményeket alkalmaztunk mindkét csoportban, ezt követték gyakoriságban a HP-FSH és a HP-hMG készítmények. Az FSH vagy rekombináns FSH készítményekkel végzett GnRH-antagonista stimulációk eredményeit az alacsony esetszám miatt nem elemeztem a továbbiakban.

A 4. táblázatban a GnRH-agonista analóg készítmények alkalmazásával végzett stimulációk eredményeit hasonlítottam össze a GnRH-antagonistákkal végzett stimulációkkal. Látható, hogy a kezelésekből résztvevő betegek életkora szignifikánsan magasabb volt a GnRH-antagonista csoportban a GnRH-agonistákhoz képest bármely gonadotropin alkalmazása mellett ($34,8 \pm 5,8$ vs. $32,9 \pm 5,3$; $p < 0,01$). A petefészek-stimuláció hossza, a nyert-, érett- és normálisan megtermékenyült petesejtek száma minden csoportban kisebb volt GnRH-antagonisták alkalmazása esetén. A beültetett embriók átlagos száma az összes ciklusra vonatkoztatva és a hMG csoportban szignifikánsan magasabb volt GnRH-agonisták alkalmazása mellett, míg ilyen különbség HP-FSH és HP-hMG készítmények esetén nem volt kimutatható. Az embrióbeültetések számára vonatkoztatott klinikai terhességi és élveszülési arány a HP-hMG stimulációs csoporton kívül minden összehasonlított stimulációs párnál magasabbnak bizonyult GnRH-agonisták alkalmazása esetén.

Tekintettel arra, hogy a GnRH-agonistákkal kezelt csoport átlagos életkora ebben a vizsgálatban alacsonyabb volt, mint a GnRH-antagonista csoporté, a továbbiakban egy életkorban egyeztetett eset-kontroll vizsgálatot terveztem végezni.

		GnRH-AG n=2347		GnRH-ANT n=544		P
		Átlag	Szórás	Átlag	Szórás	
összes kezelés	életkor (év)	32,9	5,3	34,8	5,8	<0,01 ^a
	stimuláció hossza (nap)	10,4	1,3	9,0	1,5	<0,01 ^a
	petesejtszám	8,0	4,2	6,3	4,3	<0,01 ^a
	MII petesejtek száma	6,9	4,3	5,0	3,9	<0,01 ^a
	PN2 embriók száma	4,9	3,3	3,9	3,1	<0,01 ^a
	beültetett embriók száma	3,1	0,9	2,8	1,0	<0,01 ^a
	klinikai terhességi arány	37,2%		29,1%		<0,01 ^b
	élveszülési arány	30,6%		20,4%		<0,01 ^b
+ hMG	életkor (év)	32,9	5,3	35,5	6,1	<0,01 ^a
	stimuláció hossza (nap)	10,4	1,3	9,1	1,6	<0,01 ^a
	petesejtszám	7,7	4,0	6,0	4,2	<0,01 ^a
	MII petesejtek száma	6,5	4,1	4,8	3,8	<0,01 ^a
	PN2 embriók száma	4,7	3,1	3,8	3,1	<0,01 ^a
	beültetett embriók száma	3,1	0,9	2,8	1,0	<0,01 ^a
	klinikai terhességi arány	37,7%		27,1%		<0,01 ^b
	élveszülési arány	30,8%		19,6%		<0,01 ^b
+ HP- hMG	életkor (év)	33,5	4,7	35,0	5,2	<0,05 ^a
	stimuláció hossza (nap)	10,5	1,1	8,8	1,4	<0,01 ^a
	petesejtszám	8,4	4,4	6,7	4,8	<0,01 ^a
	MII petesejtek száma	6,8	4,4	5,3	4,2	<0,05 ^a
	PN2 embriók száma	4,9	3,3	3,9	3,2	<0,05 ^a
	beültetett embriók száma	2,8	0,9	2,6	0,9	0,16 ^a
	klinikai terhességi arány	35,8%		28,4%		0,24 ^b
	élveszülési arány	31,0%		23,0%		0,18 ^b
+ HP- FSH	életkor (év)	33,3	5,4	34,7	5,4	<0,05 ^a
	stimuláció hossza (nap)	10,5	1,2	8,8	1,2	<0,01 ^a
	petesejtszám	9,6	4,5	6,9	4,2	<0,01 ^a
	MII petesejtek száma	8,2	4,2	5,5	3,8	<0,01 ^a
	PN2 embriók száma	6,1	3,6	4,3	3,0	<0,01 ^a
	beültetett embriók száma	2,9	0,9	2,9	0,9	0,67 ^a
	klinikai terhességi arány	37,9%		35,1%		0,63 ^b
	élveszülési arány	30,9%		20,2%		<0,05 ^b

4. táblázat: Kombinált GnRH-agonista+gonadotropin és GnRH-antagonista + gonadotropin stimulációk klinikai mutatóinak összehasonlítása az alkalmazott GnRH-analóg készítmény függvényében. AG: agonista, ANT: antagonista, hMG: humán menopausalis gonadotropin, HP: highly purified, FSH: follikulus stimuláló hormon, MII: érett petesejt (metafázis II), PN2: normális megtermékenyülést mutató embrió

^a Student T-próba; ^b Pearson chi² teszt

4.4. GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálat eredményei

Az Asszisztált Reprodukciós Osztály 15 éves működése során végzett GnRH-antagonista – GnRH-agonista stimulációk összehasonlításakor (ld. 4.2.1 fejezet) a két csoport betegeinek életkora különbözött. Az ebből adódó eltérés kiküszöbölésére eset-kontroll vizsgálatomban a 100 GnRH-antagonista kezeléshez a 3.1.3. fejezetben leírtaknak megfelelően választottam meg a GnRH-agonista kontroll-csoportot. A két csoport betegeinek átlagéletkora, testtömegindexe és bazális FSH-koncentrációja nem különbözött, a két csoport betegeinek kezelési javallatai megegyeztek. Mindkét csoportban hasonló arányban alkalmaztunk petefészek-stimulációra HP-FSH és hMG készítményeket (5. táblázat).

	GnRH-agonista n=100	GnRH-antagonista n=100	P
Életkor (év) ^a	33,7 (± 5,6)	33,6 (± 5,6)	0,74 ^b
BMI (testtömeg index) (kg/m ²) ^a	22,9 (± 3,7)	23,0 (± 3,8)	0,41 ^b
Bazális FSH-koncentráció (NE/l) ^a	6,8 (± 1,8)	7,4 (± 4,1)	0,07 ^b
Kezelés javallatai:			
kürt eredetű meddőség	22	22	
egyéb női meddőség	5	5	
andrológiai eredet	35	35	
összetett javallat	14	14	
ismeretlen eredet	24	24	
Összesen:	100	100	
Stimuláció HP-FSH-val	17% (17/100)	24% (24/100)	0,29 ^c

5. táblázat: A GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálatban résztvevő két csoport jellemzői

^aátlag (± szórás); ^b Mann-Whitney U-teszt; ^c Pearson chi² teszt

A GnRH-agonista csoportban szignifikánsan több tüszőt szívunk le és ezzel párhuzamosan több petesejtet nyertünk ciklusonként, mint az antagonista-csoportban. Mindkét csoportban volt olyan ciklus, ahol nem tudtunk petesejtet nyerni, ezek számában azonban nem volt jelentős különbség a csoportok között. Az érett petesejtek arányában nem mutatkozott szignifikáns különbség. Az érett petesejtekben 62,1%-ban volt jelen cytoplasma rendellenesség az antagonista-csoportban, míg csak 49,9%-ban az agonista csoportban, mely különbség szignifikánsnak mutatkozott (6. táblázat).

	GnRH-agonista n=100	GnRH-antagonista n=100	P
Leszívott tüszők száma ^a	11,2 (±5,0)	9 (±4,9)	<0,01 ^b
Ciklusok, melyekben nem nyertünk petesejtet	4,0%	1,0%	0,37 ^d
Ciklusonkénti petesejtszám ^a	8,1 (±4,3)	6,5 (±4,0)	<0,01 ^b
Érett (metafázis II.) petesejtek aránya	88,4% (419/474)	87,2% (340/390)	0,58 ^c
Cytoplasma rendellenesség a petesejtben	49,9% (228 / 457)	62,1% (208 / 335)	<0,01 ^c

6. táblázat: A petesejtek mennyiségére és minőségére vonatkozó paraméterek a GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálatban

(^a átlag±szórás; ^b Mann-Whitney U-teszt; ^c Pearson chi² teszt; ^d Fisher exact teszt)

A megtermékenyített petesejtek száma ciklusonként szignifikánsan magasabb volt az agonista csoportban. A normális megtermékenyülést mutató (azaz két pronucleussal rendelkező) petesejtek aránya GnRH-agonisták alkalmazását követően meghaladta a GnRH-antagonisták alkalmazása esetén megfigyelt arányt, azonban ez a különbség nem volt szignifikáns. Normális nucleolus eloszlást mutató zygóták szignifikánsan nagyobb arányban fordultak elő az agonista-csoportban. (7. táblázat)

	GnRH-agonista n=100	GnRH-antagonista n=100	P
Megtermékenyített petesejtek száma ciklusonként	5,1 (±3,4)	3,7 (±3,0)	<0,01 ^a
ICSI kezelések aránya	68,8% (66 / 96)	74,8% (74 / 99)	0,22 ^b
Normális megtermékenyülést mutató petesejtek aránya (összesen)	60,4% (489 / 810)	55,9% (363 / 649)	0,09 ^b
Normális megtermékenyülést mutató petesejtek aránya (csak ICSI)	59,9% (284 / 474)	57,7% (225 / 390)	0,51 ^b
Normális megtermékenyülést mutató petesejtek aránya (csak IVF)	61,0% (205 / 336)	53,3% (138 / 259)	0,06 ^b
Normális nucleolus eloszlás	58,0% (280 / 483)	49,3% (176 / 357)	<0,01 ^b

7. táblázat: A megtermékenyülést jellemző paraméterek a GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálatban

(^a Mann-Whitney U-teszt; ^b Pearson chi² teszt)

Korai osztódást tendenciájában nagyobb arányban figyeltünk meg antagonisták alkalmazása mellett, azonban a két csoport közötti különbség nem bizonyult szignifikánsnak. Az embriók gyorsabb osztódásának tendenciája a preembryók második napon megfigyelt szignifikánsan magasabb sejtszámában mutatkozott meg a GnRH-antagonista csoportban. A jó minőségű preembryók és a többmagvú blastomérák arányában nem volt szignifikáns különbség a két csoport között. A fragmentáció mennyisége szignifikánsan magasabb volt a GnRH-agonista csoportban (8. táblázat).

	GnRH-agonista n=100	GnRH-antagonista n=100	P
Korai osztódás jelenléte	32,8% (139/424)	39,6% (108/273)	0,07 ^b
Praeembryo sejtszáma a 2. napon <i>átlag</i> <i>±szórás</i>	4,03 (±1,34)	4,28 (±1,39)	<0,01 ^a
Jó minőségű preembryók száma a 2. napon	26,8% (128/477)	23,9% (84/351)	0,34 ^b
Többmagvú blastomérák jelenléte	13,0% (62/477)	13,7% (49/357)	0,76 ^b
Fragmentáció mennyisége (%) a praeembryoban a 2. napon <i>átlag</i> <i>±szórás</i>	17,3 (±12,0)	15,2 (±10,2)	<0,01 ^a

8. táblázat: A korai embriófejlődést jellemző paraméterek a GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálatban

(^a Wilcoxon-féle rangösszeg próba; ^b Pearson χ^2 teszt)

GnRH-agonisták alkalmazásakor a petefészek-stimulációhoz felhasznált gonadotropin ampullák száma szignifikánsan magasabb és a petefészek-stimuláció szignifikánsan hosszabb volt. A beültetések és a beültetett preembryók számában nem találtunk szignifikáns különbséget a két csoport között. A kryopreservációk és a fagyasztott preembryók száma sem különbözött szignifikánsan a két csoportban. A beágyazódási arány hasonló volt GnRH-agonisták és -antagonisták alkalmazását követően. Tendenciájában magasabb klinikai terhességi arányt figyeltünk meg a GnRH-agonistákkal kezelt betegeknél, mint a GnRH-antagonistákkal kezeltéknél, de ez a különbség nem bizonyult szignifikánsnak sem az elvégzett embrióbeültetések, sem az indított ciklusok számára vonatkoztatva, ellenben megmutatkozott a szignifikánsan magasabb elveszülési arányban ($p < 0,02$) (9. táblázat).

		GnRH-agonista n=100	GnRH-antagonista n=100	P
Felhasznált gonadotropin ampullák száma	átlag ±szórás	31,5 (±15,8)	25,9 (±15,1)	<0,01 ^a
Petefészek stimuláció hossza (nap)	átlag ± szórás	10,5 (±1,3)	8,9 (±1,4)	<0,01 ^a
Embrióbeültetések aránya		94,0% (94/100)	91,0% (91/100)	0,58 ^b
Beültetett preembryók száma	átlag ± szórás	2,84 (±0,83)	2,59 (±0,87)	0,06 ^a
Kryopreservatiók száma		28,0% (28/100)	17,0% (17/100)	0,09 ^b
Fagyasztott preembryók száma	átlag ± szórás	4,64 (±2,04)	4,29 (±1,92)	0,57 ^a
Klinikai terhességi arány (/ embrióbeültetés)		40,4% (38/94)	30,8% (28/91)	0,17 ^b
Klinikai terhességi arány (/ indított ciklus)		38,0% (38/100)	28,0% (28/100)	0,13 ^b
Beágyazódási arány		20,6% (55/267)	19,1% (45/236)	0,67 ^b
Élvesztési arány / embrióbeültetés		36,2% (34/94)	22,0% (20/91)	0,02 ^b

9. táblázat: A a GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálat
kezeléseinek klinikai mutatói

(^a Wilcoxon-féle rangösszeg próba; ^b Pearson χ^2 teszt)

4.5. HP-FSH – recFSH prospektív randomizált tanulmány embriológiai adatainak retrospektív elemzése

A 70 IVF kezelést a korábban ismertetett randomizáció alapján HP-FSH vagy recFSH stimulációs csoportba soroltuk, így mindkét csoportban 35-35 kezelést indítottunk. Az egyik recFSH ciklusban a petesejtnyerést követően a férj nem kívánt a megtermékenyítéshez spermamintát adni, ezért ezt a ciklust kihagytuk a petesejt- és embryominőség valamint a klinikai kimenetel értékeléséből. Két további recFSH ciklusban nem végeztünk embrióbeültetést az OHSS veszélye miatt. Ezt a két ciklust kizártuk a kryopreservatio és terhességi arányok számolásából.

A két csoport alapjellemezői nem különböztek szignifikánsan, a betegek életkora (HP-FSH: 30,8±4,5; recFSH: 30,4±3,9 év; p=0,68), testtömegindexe (HP-FSH: 23,7±3,3; recFSH: 23,1±3,1; p=0,51) és a meddőség oka hasonló volt a két csoportban. Nem volt különbség a két csoport között a stimuláció hosszában (HP-FSH: 13,4±1,3; recFSH: 13,2±1,0; p=0,42)

és a stimulációhoz felhasznált gonadotropin ampullák számában ($32,5\pm 12,0$; $28,5\pm 8,5$; $p=0,14$). A HP-FSH csoportban 389, a recFSH csoportban 415 petesejtet nyertünk, mely indított ciklusra vonatkoztatva $11,1\pm 3,9$ és $11,9\pm 4,1$ petesejtnek felelt meg ($p=0,46$). Nem volt szignifikáns különbség a két csoport között a nyert petesejtek számában és a petesejtek morfológiai eltéréseiben: kóros első sarki test, megnagyobbodott perivitellinális tér, cytoplasma vacuolumok és -granularizáció hasonló arányban volt jelen mindkét csoportban. (Az egyik HP-FSH ciklusban a részletes petesejt-morfológiai bírálat elmaradt.) (10. táblázat)

Nem volt szignifikáns különbség a HP-FSH és recFSH csoport között az érett (MII) petesejtek és normális megtermékenyülést mutató zygóták arányában. A megtermékenyülési arány azonban szignifikánsan magasabb volt a HP-FSH csoportban a recFSH csoporthoz képest ($68,9\%$ vs. $59,9\%$, $p=0,01$) (10. táblázat).

	HP-FSH	recFSH	P
Vizsgált petesejtek száma	336	362	
Érett petesejtek/ciklus (átlag±szórás)	$11,1\pm 3,9$	$11,9\pm 4,1$	$0,46^a$
Érett (MII) petesejtek aránya	89,2%	90,3%	$0,62^b$
Első sarki test rendellenesség aránya	53,8%	55,5%	$0,64^b$
Megnagyobbodott perivitellinális tér	32,1%	36,7%	$0,20^b$
Cytoplasma vacuolisatio aránya	7,1%	4,1%	$0,09^b$
Cytoplasma granularisatio aránya	28,0%	26,0%	$0,55^b$
Megtermékenyült (2PN) zygóták	239	217	
Megtermékenyült (2PN) zygóták / ciklus (átlag±szórás)	$6,8\pm 3,2$	$6,4\pm 3,4$	$0,45^a$
Megtermékenyülési arány	68,9%	59,9%	$<0,01^b$

10. táblázat Az érett petesejtek morfológiai jellemzői és a megtermékenyülési arányok HP-FSH- val vagy rekombináns FSH-val való petefészek-stimulációt követően

^a Mann-Whitney U-teszt ^b Pearson χ^2 teszt

A HP-FSH és recFSH csoportok között az embrióminőség paraméterei nem különböztek szignifikánsan a megtermékenyülést követő második napon; az embriók sejtszáma, az adott morfológiai pontérték, az AB minőségű és a kiváló minőségű embriók aránya és a többmagvú blastomerát tartalmazó embriók aránya hasonló volt a két csoportban. A korai

embriófejlődést (a előmagok korai eltűnését vagy korai osztódást) mutató embriók aránya sem tért el jelentősen a két csoportban (11. táblázat).

	HP-FSH	recFSH	P
Vizsgált embriók száma	229	210	
Embriók sejtszáma (átlag±szórás)	4,3±1,2	4,1±1,3	0,21 ^a
Morphologiai pontérték (átlag±szórás)	2,3±0,6	2,2±0,6	0,41 ^a
Fragmentatio mennyisége (átlag±szórás)	17,4±13,3	18,7±14,5	0,39 ^a
Jó minőségű embriók aránya	31,9%	28,6%	0,45 ^b
Kiváló minőségű embriók aránya	28,4%	23,3%	0,23 ^b
Többmagvú blastomerával rendelkező embriók aránya	7,9%	10,5%	0,34 ^b
Korai embriófejlődés aránya	39,2%	40,0%	0,51 ^b

11. táblázat Embrióminőség és korai embriófejlődés vizsgálata

HP-FSH-val vagy rekombináns FSH-val való petefészek-stimulációt követően

^a Mann-Whitney U-teszt ^b Pearson χ^2 teszt

A HP-FSH csoportban a kryopreservációval járó ciklusok aránya meghaladta a recFSH csoportban megfigyelhető arányt (45,7% vs. 25,0%; $p=0,08$), azonban ezek különbsége nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét. Nyert petesejtre (23,4% vs. 14,5%, $p=0,002$) és normális megtermékenyülést mutató (2PN) zygotára vonatkoztatva (38,1% vs. 25,9%, $p=0,006$) azonban szignifikáns különbséget észleltem a két csoport között (12. táblázat).

A két csoport között nem volt szignifikáns különbség a ciklusonként beültetett embriók számában, a beágyazódási arányban, a klinikai terhességi arányban, a többes terhességek arányában és az élveszülések arányában (13. táblázat).

	HP-FSH	recFSH	P
Kryopreservált embriók aránya /petesejt	23,4%	14,5%	0,002 ^b
Kryopreservált embriók aránya /2PN zygota	38,1%	25,9%	0,006 ^b
Kryopreservatio aránya /ciklus	45,7%	25,0%	0,08 ^b
Fagyasztott embriók száma /ciklus (átlag±szórás)	5,7±2,2	6,2±2,4	0,64 ^a

12. táblázat Embriók kryopreservációja HP-FSH-val vagy rekombináns FSH-val való petefészek-stimulációt követően

^a Mann-Whitney U-teszt ^b Pearson χ^2 teszt

	HP-FSH	recFSH	P
Embrióbeültetések száma	35	32	
Beültetett embriók száma / ciklus (átlag±szórás)	3,1±0,8	3,3±1,1	0,15 ^a
Klinikai terhességi arány	37,1%	34,4%	0,68 ^b
Beágyazódási arány	15,6%	18,0%	0,63 ^b
Többes terhességek aránya	17,1%	18,8%	0,88 ^b
Élvesztési arány / embrióbeültetés	31,4%	31,3%	0,98 ^b

13. táblázat HP-FSH-val vagy rekombináns FSH-val végzett petefészek-stimulációk klinikai eredményessége

^a Mann-Whitney U-teszt ^b Pearson χ^2 teszt

5. Megbeszélés

Egy adott szakterület klinikai eredményességi mutatóinak ismerete minden munkacsoport számára elsőrendűen fontos, mert ezáltal lehetővé válik saját tevékenységének értékelése. A vizsgálatokkal és kezelésekkal kapcsolatos adatok rögzítése azonban nemcsak a meddőségi kezelések eredményessége „elsődleges végpontjának”, azaz a terhességi arányoknak megismerését teszi lehetővé, hanem bármely más összehasonlítható vizsgálatnak is megteremti alapját. Szakmai irányításom mellett elkészült egy klinikai-laboratóriumi szoftver, mely a betegek klinikai adatait, a stimulációs kezelése során alkalmazott készítményeket, a megtermékenyülésre kerülő petesejteket, az abból létrejövő zygóták és praembryók hagyományos és részletes morfológiai bírálatát tartalmazza. Ennek segítségével osztályunk működésének első 15 éve során indított összes IVF-ciklus mintegy 300.000 adatából végeztem retrospektív vizsgálataimat.

5.1. 15 év alatt elvégzett IVF-kezelések klinikai eredményességének értékelése

A European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) évente publikálja az európai IVF-ET kezeléseket összegyűjtő regiszterének adatait. A 2010-ben megjelent legfrissebb összesítés a 2006-ban végzett kezeléseket tartalmazza [136]. Az Asszisztált Reprodukciós Osztály fennállásának első 15 éve alatt elvégzett szervezeten kívüli megtermékenyítés kezeléseinek számának növekedésével párhuzamosan nőtt a létrejött terhességek és az ebből származó élveszülések száma (13. ábra). Az említett publikált adatok alapján a legtöbb európai intézet 200-500 közötti IVF-ET ciklust indít évente, ebbe a csoportba tartozik osztályunk is az évente végzett 250-300 ciklussal és az ebből származó 80-100 klinikai terhességgel.

Az európai adatok alapján az ICSI-vel kiegészített IVF-ET ciklusok aránya évről-évre nő. 2006-ban a jelentésben résztvevő 32 országból 11 ország esetében meghaladta a 75%-ot. Osztályunk is ebbe a csoportba tartozik az évek során megfigyelt 71-83% közötti ICSI frekvenciával (15. ábra). Kiemelendő, hogy néhány országban az ICSI-vel kombinált IVF-ET kezeléseinek aránya megközelítette a 100%-ot, míg a skandináv államokban a hagyományos IVF-kezelések maradtak többségben.

Osztályunkon az embrióbeültetésekre vonatkoztatott klinikai terhességi arány 1996-tól minden évben meghaladta a 30%-ot, sőt 2001-ben és 2004-ben a 40%-ot is (42,7% és 41,6%), ezekben az években 24,6-35,7%-os élveszülési arányt értünk el (16-19. ábra). A 2006-os említett európai összesített adatok 33,2%-os klinikai terhességi arányról és 21,2%-os élveszülési arányról számolnak be. A 18. ábrán megfigyelt, a kezelt nő életkorával fordítottan arányos terhességi arányaink hasonlóak az európai adatokhoz: Európában 2006-ban IVF-kezelések esetén indított ciklusra vonatkoztatva a terhességi arány 35 év alatti korcsoportban 28,2%, 35-39 év kor között 22,2%, míg 39 év felett 9,6% volt. 40 éves kor felett osztályunk anyagában az embrióbeültetések 10,8%-a vezetett terhességhez, mely -figyelembe véve azt, hogy az összes kezelés 10%-a ebben a korcsoportban történik- kiemelkedő jelentőségű a párok számára családtervezési- és a meddőségi munkacsoport számára a kezelések megtervezése szempontjából.

Osztályunkon végzett szervezeten kívüli megtermékenyítésből származó klinikai terhességek 80,6%-a végződött szüléssel, mely meghaladja Arce és mtsai [137] becslésével számolt 72%-os klinikai terhességre vonatkoztatott élveszülési arányt. Az Asszisztált Reprodukciós Osztály munkájának egyik kiemelten fontos minőségi mutatója, hogy 15 év alatt a terhesek szülésig történő nyomonkövetése 99,4%-ban volt sikeres.

5.2. GnRH-antagonista cetorelix kétféle adagolási protokoll szerinti összehasonlításának értékelése

A GnRH-antagonista cetorelix klinikai alkalmazásával kapcsolatos tanulmányunk végzésekor még csak három III. fázisú, nemzetközi, multicentrikus tanulmány zárult le. Vizsgálatunkban két olyan tanulmányban résztvevő betegeink adatait dolgoztuk fel, melyek a cetorelix injekció 0,25 mg-os illetve 3 mg-os formáját hasonlították össze.

A GnRH-antagonista többszöri adagolás eredményességét elemző vizsgálatunk végzésekor már lezárult két multicentrikus tanulmány közül Albano és mtsai tanulmányában 2,1%-ban lépett fel idő előtti LH-csúcs [138], Felberbaum és mtsai tanulmányban pedig 1%-ban figyeltek meg idő előtti luteinistációt [139]. Olivennes és

mtsai egyszeri dosisú kezelést vizsgáló tanulmányukban 2,6%-ban tapasztaltak idő előtti LH-emelkedést [140]. Saját beteganyagunkban egyik kezelési séma mellett sem lépett fel idő előtti LH-csúcs, így a kezelés megszakítására, azaz a stimuláció idő előtti befejezésére egyetlen esetben sem volt szükség.

A gonadotropinstimuláció átlagos időtartama mindkét protokoll alkalmazása során 9 nap volt, ami kevesebb, mint GnRH-agonista kezelés mellett szükséges stimulációhossz. Ez a cetorelix adása mellett részlegesen fennmaradó endogen gonadotropintermeléssel magyarázható. A felhasznált gonadotropin ampullák mennyisége a Lübeck-protokollal kezelt csoportban nagyobb volt, de ez a kis esetszám és a nagy szórás miatt nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak. A különbség háttérében az ebbe a csoportba nagyobb arányban bevont, a stimulációra „gyengén reagáló” (poor responder) betegek magasabb gonadotropinigényét feltételezzük.

A tüszőérés minőségét jellemző szérumsztradiol-szint a 0,25 mg-os cetorelix injektókkal kezelt csoportban szinte minden betegnél a klasszikus, optimálisnak tartott folyamatos emelkedést mutatta, bár az abszolút érték tekintetében volt jelentősebb eltérés is, mely a nyert petesejtek számában is tükröződött.

Cetorelixszel kombinált petefészek-stimulációt követő IVF-kezeléssel kapcsolatban 1994-ben [141], míg ganirelix esetében 1998-ban számoltak be először kiviselt terhességről [94]. Tanulmányunkban Magyarországon elsőként számoltunk be olyan IVF-ET kezelés útján fogant terhességekből származó élveszülésekről, melyeknél a petefészek-stimulációt GnRH-antagonistákkal kombinálva végeztük.

Kórházi felvételt igénylő súlyosságú túlstimulálási szindróma a cetorelix tanulmányban résztvevő betegeink egyikénél sem lépett fel. Az említett multicentrikus tanulmányok adatai szerint a kórkép súlyos (II/III. fokú) formája az agonistával kombinált ciklusoknál talált gyakorisághoz képest lényegesen ritkábban fordul elő cetorelix kezelés kapcsán. Ennek háttérében feltehetően az áll, hogy GnRH-antagonista alkalmazása esetén az érésnek induló tüszők kiválasztódása az élettanihoz jobban hasonlít, mint agonisták adását követően így a homogénebb tüszőérés alacsonyabb szérumsztradiol-szintet eredményez az ovulációindukció napján. A GnRH-agonisták alkalmazása során megfigyelhető számos kis átmérőjű tüsző ugyanis jelentős mértékben

kiveszi részét az ösztadioltermelésből, és lényeges szerepet játszik a túlstimulálási szindróma kialakulásában.

5.3. Kombinált GnRH-agonista+gonadotropin és GnRH-antagonista+gonadotropin stimulációk klinikai mutatóinak összehasonlítása

Számos tényező befolyásolhatja az IVF-ET kezelések eredményességét. Ezek közül a tüszőleszívás előtt alkalmazott hormonális petefészek-stimuláció módja a klinikus által választható és befolyásolható tényező. Éppen ezért a petefészek-stimuláció során alkalmazott készítmények klinikai hatékonyságának vizsgálata bármely új készítmény megjelenésétől kezdve intenzív vizsgálatok tárgyát képezik.

A GnRH-antagonisták 1999-es európai megjelenése után sorra jelentek és jelennek meg az összehasonlító vizsgálatok, melyek a GnRH-agonista és GnRH-antagonista készítmények klinikai- és embriológiai hatásait vizsgálják. Négy prospektív multicentrikus tanulmány a GnRH-agonista hosszú protokollal hasonlította össze a GnRH-antagonisták többszöri dózis protokollját [138, 142-144]. Ezek alapján a GnRH-antagonisták alkalmazása mellett a gonadotropin kezelést 1-2 nappal lehet csökkenteni és a nyert petesejtek száma is tendenciájában kevesebb. Ezekben a tanulmányokban nem találtak szignifikáns különbséget az érett petesejtek számában, a megtermékenyülési arányban és a jó minőségű embriók arányában, a terhességi arány bár nem szignifikánsan, de alacsonyabb volt az antagonista csoportban.

2000-ben Olivennes és mtsai prospektív randomizált vizsgálatban hasonlították össze a GnRH-antagonista cetorelix és a GnRH-agonista triptorelin hatásait [140]. A cetorelixet az egyszeri dózis protokollnak, míg a triptorelint depot-formában, a hosszú deszenzitizációs protokollnak megfelelően alkalmazták. Gonadotropin készítményként hMG-t használtak. Eredményeik azt mutatták, hogy a stimuláció hossza és a felhasznált gonadotropin ampullák száma szignifikánsan magasabb volt a triptorelinnel kezelt betegeknél. A szérum ovulációindukció napján mért ösztadiol-koncentrációja a cetorelix-szel kezelt csoportban szignifikánsan alacsonyabb volt. Az OHSS nagyobb arányban fordult elő az agonista-csoportban. A nyert petesejtek száma és a klinikai

terhességi arány magasabb volt a triptorelinnel kezelt nők csoportjában, de ez utóbbi nem volt szignifikáns a két csoport között.

Albano és mtsai prospektív randomizált vizsgálatban cetorelixet és buszerelint hasonlítottak össze, az előbbit a többszöri adagolás, utóbbit a hosszú protokollnak megfelelően. Gonadotropinként itt is hMG-t használtak [138]. Az eredmények hasonlóan alakultak, mint a fent említett: a felhasznált hMG-ampullák száma és a stimulációs kezelés időtartama itt is szignifikánsan alacsonyabb illetve rövidebb volt az antagonistacsoportban, mint az agonistáknál. Szignifikáns különbséget találtak a nyert petesejtek számában az agonista buszerelin javára és hasonlóan kissé magasabb, de nem szignifikánsan eltérő klinikai terhességi arányt mutattak ki az agonista-csoportban az antagonistákhoz képest.

Az első metaanalízist, mely GnRH-antagonista készítmények (cetorelix vagy ganirelix) hosszú protokoll szerint alkalmazott GnRH-agonistával való összehasonlításával foglalkozik, Ludwig és mtsai 2001-ben közzétették [93]. A nyert petesejtek száma alacsonyabb volt az antagonisták csoportjában. A klinikai terhességi arány szignifikánsan alacsonyabb volt a ganirelix-szel kezelt csoportban, mint az agonisták alkalmazása során, viszont cetorelix esetén nem volt ilyen különbség kimutatható a két különböző készítménnyel kezelték között. Cetorelix alkalmazásakor szignifikánsan alacsonyabbnak találták az OHSS kialakulásának esélyét, mint agonisták alkalmazásakor. Ilyen különbséget azonban nem tapasztaltak ganirelix alkalmazását követően. Ennek alapján azonban nem állítható, hogy a ganirelix a cetorelixnél kevésbé hatékony készítmény lenne, hiszen a két antagonistakészítmény hatékonyságát közvetlenül eddig még nem hasonlították össze egyetlen vizsgálatban sem.

Kolibianakis és mtsai 2006-ban megjelent, 22 korábbi vizsgálatot feldolgozó metaanalízise azt vizsgálta, hogy az alkalmazott GnRH-analóg megválasztása hogyan befolyásolja az élveszületés arányát [145]. Ahol a vizsgálat nem terjedt ki az élveszületés arányára és a munkacsoportokat felkeresve sem kaptak pontos értéket, ott Arce és munkatársainak 2005-ös közleménye alapján számították az élveszületés arányát. (Arce vizsgálatai szerint az összes terhesség számánál 20%-kal kevesebb a klinikai terhesség, ennél 9%-kal kevesebb az első trimeszter végéig eljutó terhesség és

ennél 8%-kal kevesebb az élve született magzatok száma [137]). Ezen metaanalízis eredményei szerint az élveszületés aránya nem függ attól, hogy milyen GnRH-analógot alkalmaztak a szervezeten kívüli megtermékenyítés kezelése során.

Al-Inany és mtsai öt nagy randomizált tanulmány metaanalízisével készült felmérése alapján a terhességi arány 5%-kal kisebb antagonisták alkalmazása esetén [146]. Felmerült, hogy az alacsonyabb terhességi arány oka a jelenleg alkalmazott stimulációs protokollban keresendő. A GnRH-antagonistákat ezekben a tanulmányokban a stimuláció 6. napján kezdték el adni, mely néhány beteg számára esetleg túl korai lehet és ezáltal kevesebb és gyengébb minőségű petesejt érik meg.

A GnRH-agonistákkal illetve GnRH-antagonistákkal végzett kezelések hatásait több speciális betegcsoporton is vizsgálták. Az első összehasonlító vizsgálatok között már megjelentek az ún. „gyengén reagálók” csoportján végzett tanulmányok. A meghatározás kritériuma kevesebb mint 3-5 érett tüsző vagy nyert petesejt, illetve a stimuláció során mért ösztadiol csúcskoncentrációja alacsonyabb mint 300-500 pg/ml. A „gyengén reagálók” stimulációja elhúzódó, magas a gonadotropin szükségletük, kórelőzményükben legalább egy sikertelen IVF-stimuláció szerepel. A petefészekstimulációra „gyengén reagáló” betegeknél alacsonyabb a terhességi arány és nagyobb a vetélések száma. 2001-ben jelent meg az első ilyen összehasonlító vizsgálat „gyengén reagáló” betegek kezelése között, amelyben Nikolettos és munkatársai nem mutattak ki szignifikáns különbséget a két kezelés hatásai között [147]. A felhasznált gonadotropin ampullák száma és a stimuláció napjainak száma ebben a betegcsoportban is szignifikánsan kevesebb volt GnRH-antagonisták alkalmazása során. Ezek az előnyök a készítmények elhúzódó adása miatt ebben a betegcsoportban különösen fontosak. 2005-ben Malmusi és munkatársai ennek ellenkezőjét mutatták ki: több gonadotropin ampullára volt szükség a GnRH-antagonisták csoportjában, és több érett petesejtet nyertek az agonisták csoportjában. A beágyazódási és terhességi arányban nem mutattak ki szignifikáns különbséget a két csoport között [148]. Az ellentmondásos eredmények miatt ezeket a közleményeket számos újabb közlemény követte, amelyek a „gyengén reagálók” csoportját vizsgálta. 2009-ben Berin és munkatársai nem találtak szignifikáns különbséget vizsgálatuk során egyik említett paraméterben sem a GnRH-antagonista cetrotrelax-szel és az agonista leuprolinnal kezelt csoportok között [149].

Az összehasonlító tanulmányok másik speciális csoportja azt vizsgálja, hogy a GnRH-agonisták illetve -antagonisták hogyan hatnak a kryopreservatio kimenetelére. 2002-ben Seelig és munkatársai kimutatták, hogy a kryopreservatio utáni beágyazódási, terhességi arány és a vetélések száma nem függ a fagyasztás előtt alkalmazott GnRH-analógtól [150]. Medved és munkatársai azt állapították meg 2006-os tanulmányukban, hogy a GnRH-agonisták csoportjában nagyobb volt a kryopreservatiót túlélő embriók aránya, azonban a terhességi arányban és az élveszületési arányban nem volt szignifikáns különbség a két csoport között [151]. Ugyanerre az eredményre jutottak 2007-ben Lee és munkatársai is [152].

Az Asszisztált Reprodukciós Osztály 15 éve alatt a GnRH-analógokkal kombinált petefészek-stimulációval végzett IVF-kezelések elemzésében minden vizsgált klinikai paraméter (nyert-, érett- és megtermékenyült petesejtek száma, klinikai terhességi- és élveszületési arány) szignifikánsan nagyobb volt a GnRH-agonistákkal végzett stimulációk során, mint GnRH-antagonisták alkalmazása esetén (3. táblázat). A kezelések megoszlásánál azonban látható, hogy a kombinált GnRH-agonista + gonadotropin petefészek-stimulációt összességében négyszer gyakrabban alkalmaztuk, mint GnRH-antagonistákkal kombinált kezelést (20. ábra). Ennek magyarázata, hogy osztályunk gyakorlatában a petefészek-stimulációk során a GnRH-agonisták töltik be az elsődleges GnRH-analóg szerepet, GnRH-antagonisták alkalmazására csak a korábbi stimulációknál észlelt gyenge vagy fokozott petefészek-válasz illetve a kezelések időbeosztása miatt kerül sor. Griesinger és mtsai a kezelések hasonló eloszlásáról számoltak be a nemzetközi gyakorlatban [153]. A GnRH-antagonisták alkalmazásának másodlagos szerepe tükröződik a két csoportban lévő betegek eltérő életkorában is: a GnRH-antagonisták segítségével végzett stimulációk esetében a betegek átlagéletkora magasabb volt, mint GnRH-agonisták alkalmazásakor, s ez alapvetően meghatározza a kezelés eredményességét (18. ábra).

5.4. GnRH-antagonista – GnRH-agonista eset-kontroll vizsgálat eredményei

A GnRH-agonista és GnRH-antagonista kezelésekben résztvevő nők életkorából és a petefészek-stimuláció kezelőorvos általi megválasztásából adódó különbségek kiküszöbölése érdekében a kétféle GnRH-analóggal kombinált petefészek-stimuláció

petesejt- és embrióminőségre kifejtett hatásának elemzésekor csak azon ciklusok kerültek bele vizsgálatomba, melyek az adott beteg esetén az első IVF-ET kezelés volt. Egy-egy petesejt- vagy embrióminőségre vonatkozó paramétert vizsgáló közlemények ugyan már napvilágot láttak, azonban részletes, az összehasonlítás ezen területére fókuszáló tanulmányok ismereteim szerint még nem készültek. Baart és mtsai praeimplantációs genetikai screening (PGS) segítségével embryonalis mozaicizmus és aneuploidia magas arányát mutatták ki petefészek-stimulációs protokollok alkalmazásakor [154], mely szintén rámutat arra, hogy a beültetésre kerülő embriók megfelelő megválasztásával csökkenthetjük a magas anyai és magzati mortalitással és morbiditással járó ikerterhességek számát.

Több munkacsoport vizsgálta már a ciklusonként nyert petesejtek számát a két protokoll során. Ludwig és mtsai, Albano és mtsai és Olivennes és mtsai az általam is megerősített eredményt kapták: GnRH-agonisták alkalmazását követően szignifikánsan több petesejt nyerhető, mint GnRH-antagonisták használata során [93, 155, 156]. Huirne és munkatársai kidolgoztak egy elméletet, amivel ezt a petesejtszámbeli különbséget magyarázzák [103]. Eszerint GnRH-antagonisták alkalmazásakor a tüszők fejlődése nem egyenletes, mivel az ún. „FSH-kapu” megtörik. A kezelést megelőző ciklus végén az FSH-koncentráció emelkedik, majd lecsökken. A gonadotropin készítmények adagolása után azonban újra nő, így az FSH-kapu ismét létrejöhethet. Az FSH-koncentráció ingadozása miatt a tüszők nem fejlődnek egyenletesen, így kevesebb tüsző nő meg a megfelelő méretig, és kevesebb lesz a kisebb tüszők száma is. Ezzel szemben a GnRH-agonisták „hosszú protokolljában” az FSH-koncentráció alacsony, és csak az exogén gonadotropin adagolás kezdete után emelkedik megfelelő szintre. A tüszők fejlődése ebben a protokollban egyenletes, így több tüsző éri el a megfelelő méretet és több tüsző marad kis méretű is. Megoldást az orális fogamzásgátló előkezeléssel kiegészített GnRH-antagonista protokollban látták, de Barmat és mtsai tanulmánya alapján a fogamzásgátlók alkalmazása sem hozott szignifikáns javulást a nyert petesejtek mennyiségében [157].

Az érett petesejtek arányának vizsgálata kevés tanulmányban szerepel. Olivennes és Kurzawa munkacsoportja sem talált szignifikáns különbséget az érett petesejtek arányában GnRH-agonisták illetve -antagonisták alkalmazása során [140,

158]. Az embrióminőségre vonatkozó paraméterek közül a jó minőségű preembriók arányát vizsgálták közleményükben, ebben az általam bemutatott eredményekhez hasonlóan ők sem találtak különbséget a két vizsgált csoport között.

A normális megtermékenyülést mutató petesejtek arányát „hagyományos” IVF és ICSI kezelésekre lebontva, az érett petesejtekben található cytoplasma rendellenességek arányát, a normális nucleolus eloszlású zigóták arányát, a korai osztódás jelenlétét, a többmagvú blasztomérák arányát és a fragmentáció mennyiségét még nem elemezték a GnRH-agonisták és antagonisták összehasonlító vizsgálatai során.

Albano és mtsai és Olivennes és mtsai korábbi közleményeihez hasonlóan [138, 140] vizsgálatom során is szignifikánsan kevesebb gonadotropin ampullára volt szükség és a stimuláció hossza is rövidebb volt GnRH-antagonisták alkalmazásakor, mint GnRH-agonistáknál. A klinikai terhességi arányt, mint a kezelések hatékonyságának egyik legjobb mutatóját, az összes összehasonlító tanulmány során vizsgálták. Az említett tanulmányok [138, 140] eredményeihez hasonlóan én is abszolút értékben magasabb klinikai terhességi arányt tapasztaltam a GnRH-agonistákkal kezelt betegek csoportjában, ez a különbség vizsgálatomban azonban nem bizonyult szignifikánsnak. GnRH-agonistákkal kombinált stimulációt követően (Kolibanakis és mtsai metaanalízisével szemben [145]) szignifikánsan magasabb élveszülési arányt figyeltem meg (9. táblázat).

5.5. HP-FSH – recFSH prospektív randomizált tanulmány klinikai és embriológiai adatainak retrospektív értékelése

A tüszőnövekedés során jelenlévő és a petefészek-stimulációra alkalmazott gonadotropin készítményekben található LH szerepéről megoszlanak a vélemények. Míg az ovuláció előtti magas LH-szint kedvezőtlenül befolyásolja a kezelés eredményességét, Fleming és mtsai tanulmánya felvetette, hogy a késői folliculáris fázisban a jelentősen csökkent LH-koncentráció kedvezőtlen lehet az IVF-kezelés klinikai kimenetelére [159], ezért LH-t és FSH-t egyaránt tartalmazó vizelet készítmények vagy exogén FSH-hoz adott rekombináns LH/hCG készítmények használata javasolt. Ezeket az eredményeket azonban számos tanulmány nem

támasztotta alá, sőt megkérdőjelezte az exogén LH szükségességét [160-162]. Loumaye és mtsai tanulmányukban rekombináns FSH-ra túlzott reakciót adó anovulatorikus nőket a továbbiakban vagy placebóval vagy rekombináns LH-val kezeltek [163]. Azon nők esetében, akiknek LH-t adtak, megfigyelhető volt a preovulatorikus folliculusok számának csökkenése. Ezzel szemben Hugues és mtsai tanulmányában a késői folliculáris fázisban önmagában recLH alkalmazása mellett a preovulatorikus tüszőérés zavart szenvedett [164].

Filicori és mtsai közleménye alapján az exogén LH képes szelektíven stimulálni a kifejlődött érettebb domináns tüszőket [165], ezért az FSH LH-készítményekre való váltása a stimuláció során hasznos lehet homogénebb tüszőkohort elérése érdekében. Ezzel szemben Balasch és mtsai vitatták, hogy az LH-pótlás előnyös lenne [166]. Számos tanulmány egymással ellenkező eredményre jutott a stimuláció közben megfigyelhető szérumban LH-szintek és az IVF-kezelések eredményessége között [167, 168]. Úgy tűnik, hogy nem egy egyszerű LH cut-off szint létezik, hanem inkább egy LH-ablak, mivel bizonyos LH-határérték alatt az ösztradiol termelés nem megfelelő, viszont egy bizonyos szint fölött az LH hátrányosan befolyásolhatja a tüszőérést [160].

GnRH-agonisták alkalmazása mellett a HP-FSH és a recFSH összehasonlítására irányuló prospektív, randomizált, multicentrikus tanulmányunk értékelése kapcsán a nyert petesejtek számában nem találtam különbséget a kétfajta gonadotropin stimuláció között. Ez utóbbihoz hasonló eredményekről Selman és mtsai és Baker és mtsai is beszámoltak [169, 170]. Ettől eltérően Bergh és mtsai és Frydman és mtsai a recFSH csoportban [171, 172], míg Abate és mtsai a HP-FSH csoportban számoltak be több nyert petesejtről [173].

Az érett petesejtek száma hasonlóan más tanulmányokhoz ([169-171]) nem különbözött az általam vizsgált két csoportban. Pacchiarotti és mtsai tanulmányukban HP-FSH-val kombinált recFSH stimulációt követően több érett petesejtet tudtak nyerni [174], mint önmagában rekombináns FSH-val.

Nem találtam különbséget a két csoport között a nyert petesejtek morfológiai képében (kóros első sarkitest morfológia, megnagyobbodott perivitellinális tér, a cytoplasma vacuolumjai és szemcsézettsége). Korábbi tanulmányok nem közöltek

részletes petesejtbírálatot az alkalmazott gonadotropin készítmény függvényében. Abate és mtsai tanulmánya [173] a megfigyelésemhez hasonlóan nem talált különbséget a kétfajta stimuláció között a létrejött embriók minőségében. Selman és mtsai a Veeck-féle embrióminősítési rendszert használva [175] megállapították, hogy HP-FSH stimulációt követően nagyobb arányban fordulnak elő a legjobb minőségű osztályba tartozó embriók, mint recFSH alkalmazásakor [169]. Tanulmányomban a petesejtszámra vonatkoztatott fagyasztott embriók száma szignifikánsan magasabb volt a HP-FSH csoportban, ezzel ellentétben korábban Bergh és mtsai ellenkező eredményről számoltak be [171] és az említett többi tanulmányban is ez utóbbi tendencia volt megfigyelhető [169, 170].

Annak ellenére, hogy a HP-FSH csoportban nagyobb arányban fordult elő normális megtermékenyülés, a terhességi-, beágyazódási-, és elveszülési arányban nem volt különbség a két csoport között. Daya és Gunby 1999-ben 12 korábbi tanulmány eredményeit foglalta össze, melyben a rekombináns FSH készítmények eredményességét vetették össze a vizeletből származó (FSH és HP-FSH) készítményekkel [176]. Metaanalízisükben a klinikai terhességi arányt szignifikánsan magasabbnak találták recFSH készítmények alkalmazásakor. 2002-ben Daya frissített metaanalízisében már csak a follitropin alfa csoportban volt ez a különbség szignifikáns [65]. Al-Inany és mtsai metaanalízisében csak GnRH-agonista hosszú protokollal kombinált kezelések szerepeltek [71], megállapításaik szerint rekombináns készítmények alkalmazása sem a vizeletből származó készítményekkel szemben általában, sem HP-FSH-val szemben nem jár klinikai előnnyel. Ezt Al-Inany és mtsai és Coomarasamy és mtsai későbbi metaanalízisei is megerősítették [177, 178], melyekben HP-FSH alkalmazása mellett magasabb elveszülési arányról számoltak be.

2010-ben Lehert és mtsai közölték az eddigi legnagyobb, 16 tanulmányt és 4040 beteget magába foglaló metaanalízisük eredményét [179]. Rekombináns FSH és hMG készítmények összehasonlítása során a klinikai terhességi arányban nem találtak különbséget a kétfajta gonadotropinnal végzett stimuláció között, azonban recFSH stimulációkor kevesebb gonadotropinszükséglet mellett szignifikánsan több petesejtet lehetett nyerni.

6. Következtetések

1) Az IVF-ET kezelések során a klinikai és embriológiai adatok minden részletre kiterjedő rögzítése a mindennapi klinikai munka könnyítésén túl megalapozza az adatok tudományos kiértékelésének lehetőségét is. A rögzített adatok alapján lehetőségem nyílt osztályunk működésének objektív értékelésére és ennek alapján bármely új szempont (pl. beteg-korcsoport, kezelési időszak, gyógyszerelés) szerinti értékelése is lehetővé válik a jövőben.

2) A GnRH-antagonista cetorelix alkalmazásával az idő előtti LH-csúcs kialakulása az egyszeri vagy többszöri kezelési protokollt követve egyaránt elkerülhető IVF-stimuláció során, így a kétfajta GnRH-antagonista készítmény megfelelő betegcsoport esetében reális alternatívája a GnRH-agonistákkal végzett kezelésnek.

3) Megállapítottam, hogy kombinált GnRH-agonista analóg + gonadotropin stimuláció során a petefészek-stimuláció időtartama hosszabb, a felhasznált gonadotropin ampullák száma több, mint GnRH-antagonistákkal kombinált kezeléseké. Ezzel szemben minden más klinikai mutató (nyert-, érett és normális megtermékenyülést mutató petesejtek száma, klinikai terhességi- és élveszülési arány) kedvezőbb GnRH-agonistákkal kombinált kezelése során. Mivel a GnRH-agonista kezeléseknél résztvevő betegcsoport átlagéletkora alacsonyabb volt a GnRH-antagonista csoportban lévő nők életkoránál, ezért a klinikai mutatók összehasonlítása csak megfelelően párosított minta értékelése útján lehetséges.

4) Az alkalmazott petefészek-stimulációs protokollok petesejtek és embriók minőségét és a korai embriófejlődést befolyásoló hatásának vizsgálatokor úgy találtam, hogy bár GnRH-antagonisták alkalmazásakor a kezelése során nyert petesejtek mennyisége és minősége elmarad a GnRH-agonisták alkalmazása mellett nyert petesejtekétől, azonban az embriófejlődés dinamikája kedvezőbben alakul, mint GnRH-agonisták alkalmazását követően. A két csoport között az élveszülési arányban mutatkozó különbség a klinikai terhességi arányokban nem figyelhető meg: a két kezelési protokoll petesejt- és embrióminőségre kifejtett kedvező illetve kedvezőtlen hatásai különböző szinten jelentkeznek.

5) A petefészek-stimuláció során alkalmazott gonadotropin készítmények vizsgálatakor a HP-FSH és a recFSH petesejt- és embrióminőségre kifejtett hatásában nem találtam különbséget. A HP-FSH készítmények esetében több fagyasztásra alkalmas embrió állt rendelkezésre, ami azért kedvezőbb, mert ilyen módon a kumulatív terhességi arány növelhető a fagyasztott embriók későbbi ciklusban történő felolvasztása és beültetése útján.

7. Összefoglalás

A szervezeten kívüli megtermékenyítés kezelés fontos része a petefészkek hormonstimulációja. A gonadotropin készítményekkel végzett stimuláció eredményességét növeli az endogén gonadotropin-elválasztás gátlása, melyet GnRH-agonista vagy GnRH-antagonista analógok alkalmazásával érünk el.

Az Asszisztált Reprodukciós Osztályon történő klinikai-, embriológiai adatok és stimulációs kezelések pontos dokumentálásának megszervezésével lehetőségem nyílt munkacsoportunk által végzett összes kezelés értékelésére.

A stimulációs kezelések értékelésekor megfigyeltem, hogy bármely gonadotropin alkalmazása mellett a GnRH-agonistákkal végzett kezelések kedvezőbb klinikai mutatókkal rendelkeznek, magasabb terhességi aránnyal járnak, mint a GnRH-antagonistákkal kombinált kezelések. A GnRH-antagonista cetorelix IVF-stimuláció során történő alkalmazásával az idő előtti LH-csúcs jelentkezése bármely (egyszeri vagy többszöri) kezelési protokollt követve elkerülhető. Klinikai eredményesség szempontjából saját beteganyagunk adatainak elemzése alapján GnRH-agonisták alkalmazása esetén magasabb élveszülési aránnyal számolhatunk.

GnRH-antagonisták alkalmazásakor a kezelések során nyert petesejtek mennyisége és minősége elmaradt a GnRH-agonisták alkalmazása mellett nyert petesejtekétől, azonban a megtermékenyült petesejtek további fejlődése kedvezőbben alakult, mint GnRH-agonisták alkalmazását követően. A két csoport között az élveszülési arányban mutatkozott különbség a klinikai terhességi arányokban nem volt megfigyelhető, ezért a két kezelési protokoll petesejt- és embrióminőségre kifejtett kedvező illetve kedvezőtlen hatásai más-más szinten jelentkeznek.

A gonadotropin készítmények embrióminőségre kifejtett hatását vizsgálva megállapítottam, hogy HP-FSH-val végzett stimulációt követően több fagyasztásra alkalmas embrió állt rendelkezésre, mint rekombináns FSH készítmény alkalmazásakor. Ez a különbség magasabb kumulatív terhességi arány esetén előnyt jelenthet a beteg számára.

Summary

Controlled ovarian hyperstimulation is essential part of an in vitro fertilization treatment. Efficacy of the stimulation with gonadotrophins is improved by hampering the endogenous gonadotrophin secretion by two different protocols. GnRH-agonists have been used for 25 years for pituitary desensitisation, while nowadays the use of GnRH-antagonists signifies also an approved and well-established treatment for IVF.

I have established the digital documentation of all clinical- and embryological data, as well as stimulation protocols to evaluate all IVF-treatments performed at our department.

Comparison of the stimulation protocols showed that the use of GnRH-agonists results in higher clinical pregnancy- and life birth rates compared to GnRH-antagonists. Using GnRH-antagonist cetrorelix, both of the single- and multiple dose regimen are effective in avoiding the premature LH-surge.

Several randomized controlled trials comparing different stimulation protocols have focused on clinical aspects of the ovarian stimulation only, such as length of stimulation, number of oocytes retrieved and pregnancy rates. Even though the quality of oocytes and embryos is one of the most relevant factors determining the success of an IVF treatment, there are only few evidence in the literature concerning the effects of different stimulation protocols on oocyte- and embryo quality and embryo development.

According to my results, the number and quality of oocytes are impaired using GnRH-antagonists, but the further development of the embryos is more favourable compared to GnRH-agonists. Nevertheless the stimulation with GnRH-agonists results in higher life birth rate.

Comparing different gonadotrophin preparations I noticed significantly higher proportion of embryos suitable for crypreservation after HP-FSH stimulation, hence the expected higher cumulative pregnancy rate in this group could favour the patient.

8. Irodalomjegyzék

1. Steptoe, P.C. and R.G. Edwards, Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*, 1978. 2(8085): p. 366.
2. Trounson, A. and L. Mohr, Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*, 1983. 305(5936): p. 707-9.
3. Zeilmaker, G.H., A.T. Alberda, I. van Gent, C.M. Rijkmans, and A.C. Drogendijk, Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertil Steril*, 1984. 42(2): p. 293-6.
4. Fauser, B.C., P. Devroey, S.S. Yen, R. Gosden, W.F. Crowley, Jr., D.T. Baird, and P. Bouchard, Minimal ovarian stimulation for IVF: appraisal of potential benefits and drawbacks. *Hum Reprod*, 1999. 14(11): p. 2681-6.
5. Macklon, N.S. and B.C. Fauser, Mild stimulation in in vitro fertilization. *Ann N Y Acad Sci*, 2003. 997: p. 105-11.
6. Fauser, B.C., P. Devroey, and N.S. Macklon, Multiple birth resulting from ovarian stimulation for subfertility treatment. *Lancet*, 2005. 365(9473): p. 1807-16.
7. Loutradis, D., P. Drakakis, K. Kallianidis, S. Milingos, S. Dendrinou, and S. Michalakis, Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*, 1999. 72(2): p. 240-4.
8. Fancsovits, P., Z.G. Tothne, A. Murber, F.Z. Takacs, Z. Papp, and J. Urbancsek, Correlation between first polar body morphology and further embryo development. *Acta Biol Hung*, 2006. 57(3): p. 331-8.
9. Ebner, T., M. Moser, M. Sommergruber, and G. Tews, Selection based on morphological assessment of oocytes and embryos at different stages of preimplantation development: a review. *Hum Reprod Update*, 2003. 9(3): p. 251-62.
10. Fancsovits, P., L. Toth, Z.F. Takacs, A. Murber, Z. Papp, and J. Urbancsek, Early pronuclear breakdown is a good indicator of embryo quality and viability. *Fertil Steril*, 2005. 84(4): p. 881-7.

11. Puissant, F., M. Van Rysselberge, P. Barlow, J. Deweze, and F. Leroy, Embryo scoring as a prognostic tool in IVF treatment. *Hum Reprod*, 1987. 2(8): p. 705-8.
12. Cummins, J.M., T.M. Breen, K.L. Harrison, J.M. Shaw, L.M. Wilson, and J.F. Hennessey, A formula for scoring human embryo growth rates in in vitro fertilization: its value in predicting pregnancy and in comparison with visual estimates of embryo quality. *J In Vitro Fert Embryo Transf*, 1986. 3(5): p. 284-95.
13. Ziebe, S., K. Petersen, S. Lindenberg, A.G. Andersen, A. Gabrielsen, and A.N. Andersen, Embryo morphology or cleavage stage: how to select the best embryos for transfer after in-vitro fertilization. *Hum Reprod*, 1997. 12(7): p. 1545-9.
14. Urbancsek, J. and Z. Papp, *Nőgyógyászati endokrinológia*. 1997, Budapest: Springer Hungarica.
15. Palermo, G., H. Joris, P. Devroey, and A.C. Van Steirteghem, Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 1992. 340(8810): p. 17-8.
16. Kistner, R.W. and O.W. Smith, Observations on the use of a nonsteroidal estrogen antagonist: MER-25. II. Effects in endometrial hyperplasia and Stein-Leventhal syndrome. *Fertil Steril*, 1961. 12: p. 121-41.
17. Tarlatzis, B.C. and G. Grimbizis, Future use of clomiphene in ovarian stimulation. Will clomiphene persist in the 21st century? *Hum Reprod*, 1998. 13(9): p. 2356-8.
18. Young, S.L., M.S. Opsahl, and M.A. Fritz, Serum concentrations of enclomiphene and zuclomiphene across consecutive cycles of clomiphene citrate therapy in anovulatory infertile women. *Fertil Steril*, 1999. 71(4): p. 639-44.
19. Sereepapong, W., S. Suwajanakorn, S. Triratanachat, P. Sampatanukul, K. Pruksananonda, W. Boonkasemsanti, and D. Reinprayoon, Effects of clomiphene citrate on the endometrium of regularly cycling women. *Fertil Steril*, 2000. 73(2): p. 287-91.
20. Shoham, Z., A. Zosmer, and V. Insler, Early miscarriage and fetal malformations after induction of ovulation (by clomiphene citrate and/or human

- menotropins), in vitro fertilization, and gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril*, 1991. 55(1): p. 1-11.
21. Rossing, M.A., J.R. Daling, N.S. Weiss, D.E. Moore, and S.G. Self, Ovarian tumors in a cohort of infertile women. *N Engl J Med*, 1994. 331(12): p. 771-6.
 22. Gemzell, C.A., Induction of ovulation with human pituitary gonadotrophins. *Fertil Steril*, 1962. 13: p. 153-68.
 23. Lunenfeld, B., Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Hum Reprod Update*, 2004. 10(6): p. 453-67.
 24. Stokman, P.G., R. de Leeuw, H.A. van den Wijngaard, H.J. Kloosterboer, H.M. Vemer, and A.L. Sanders, Human chorionic gonadotropin in commercial human menopausal gonadotropin preparations. *Fertil Steril*, 1993. 60(1): p. 175-8.
 25. Palagianio, A., E. Nesti, and L. Pace, FSH: urinary and recombinant. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2004. 115 Suppl 1: p. S30-3.
 26. Howles, C.M., Genetic engineering of human FSH (Gonal-F). *Hum Reprod Update*, 1996. 2(2): p. 172-91.
 27. Keene, J.L., M.M. Matzuk, T. Otani, B.C. Fauser, A.B. Galway, A.J. Hsueh, and I. Boime, Expression of biologically active human follitropin in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem*, 1989. 264(9): p. 4769-75.
 28. Donderwinkel, P.F.J., D.C. Schoot, H.J.T.C. Bennink, and B.C.J.M. Fauser, Pregnancy after Induction of Ovulation with Recombinant Human Fsh in Polycystic-Ovary-Syndrome. *Lancet*, 1992. 340(8825): p. 983-983.
 29. Devroey, P., A. Vansteirteghem, B. Mannaerts, and H.C. Bennink, 1st Singleton Term Birth after Ovarian Superovulation with Rhfsh. *Lancet*, 1992. 340(8827): p. 1108-1109.
 30. Hugues, J.N., D.H. Barlow, Z. Rosenwaks, I. Cedrin-Durnerin, S. Robson, L. Pidoux, and E. Loumaye, Improvement in consistency of response to ovarian stimulation with recombinant human follicle stimulating hormone resulting from a new method for calibrating the therapeutic preparation. *Reprod Biomed Online*, 2003. 6(2): p. 185-90.
 31. Recombinant human luteinizing hormone (LH) to support recombinant human follicle-stimulating hormone (FSH)-induced follicular development in LH- and FSH-deficient anovulatory women: a dose-finding study. *The European*

- Recombinant Human LH Study Group. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998. 83(5): p. 1507-14.
32. Human recombinant luteinizing hormone is as effective as, but safer than, urinary human chorionic gonadotropin in inducing final follicular maturation and ovulation in in vitro fertilization procedures: results of a multicenter double-blind study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. 86(6): p. 2607-18.
 33. Al-Inany, H.G., M. Aboulghar, R. Mansour, and M. Proctor, Recombinant versus urinary human chorionic gonadotrophin for ovulation induction in assisted conception. *Cochrane Database Syst Rev*, 2005(2): p. CD003719.
 34. Fares, F.A., N. Suganuma, K. Nishimori, P.S. LaPolt, A.J. Hsueh, and I. Boime, Design of a long-acting follitropin agonist by fusing the C-terminal sequence of the chorionic gonadotropin beta subunit to the follitropin beta subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992. 89(10): p. 4304-8.
 35. Schally, A.V., A. Arimura, A.J. Kastin, H. Matsuo, Y. Baba, T.W. Redding, R.M. Nair, L. Debeljuk, and W.F. White, Gonadotropin-releasing hormone: one polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones. *Science*, 1971. 173(4001): p. 1036-8.
 36. Schally, A.V., R.M. Nair, T.W. Redding, and A. Arimura, Isolation of the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone-releasing hormone from porcine hypothalami. *J Biol Chem*, 1971. 246(23): p. 7230-6.
 37. Krsmanovic, L.Z., A.J. Martinez-Fuentes, K.K. Arora, N. Mores, M. Tomic, S.S. Stojilkovic, and K.J. Catt, Local regulation of gonadotroph function by pituitary gonadotropin-releasing hormone. *Endocrinology*, 2000. 141(3): p. 1187-95.
 38. Kang, S.K., K.C. Choi, K.W. Cheng, P.S. Nathwani, N. Auersperg, and P.C. Leung, Role of gonadotropin-releasing hormone as an autocrine growth factor in human ovarian surface epithelium. *Endocrinology*, 2000. 141(1): p. 72-80.
 39. Chegini, N., H. Rong, Q. Dou, S. Kipersztok, and R.S. Williams, Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH receptor gene expression in human myometrium and leiomyomata and the direct action of GnRH analogs on myometrial smooth muscle cells and interaction with ovarian steroids in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996. 81(9): p. 3215-21.

40. Cheng, K.W., P.S. Nathwani, and P.C. Leung, Regulation of human gonadotropin-releasing hormone receptor gene expression in placental cells. *Endocrinology*, 2000. 141(7): p. 2340-9.
41. Schally, A.V., Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: their impact on the control of tumorigenesis. *Peptides*, 1999. 20(10): p. 1247-1262.
42. Coccia, M.E., C. Comparetto, G.L. Bracco, and G. Scarselli, GnRH antagonists. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2004. 115 Suppl 1: p. S44-56.
43. Leyendecker, G., L. Wildt, and M. Hansmann, Pregnancies Following Chronic Intermittent (Pulsatile) Administration of Gn-Rh by Means of a Portable Pump (Zyklomat) - a New Approach to the Treatment of Infertility in Hypothalamic Amenorrhea. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1980. 51(5): p. 1214-1216.
44. Conn, P.M. and W.F. Crowley, Jr., Gonadotropin-releasing hormone and its analogs. *Annu Rev Med*, 1994. 45: p. 391-405.
45. Tarlatzis, B.C., B.C. Fauser, E.M. Kolibianakis, K. Diedrich, L. Rombauts, and P. Devroey, GnRH antagonists in ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod Update*, 2006. 12(4): p. 333-40.
46. Huirne, J.A. and C.B. Lambalk, Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. *Lancet*, 2001. 358(9295): p. 1793-803.
47. Ditkoff, E.C., D.L. Cassidenti, R.J. Paulson, M.V. Sauer, W.L. Paul, J. Rivier, S.S. Yen, and R.A. Lobo, The gonadotropin-releasing hormone antagonist (Nal-Glu) acutely blocks the luteinizing hormone surge but allows for resumption of folliculogenesis in normal women. *Am J Obstet Gynecol*, 1991. 165(6 Pt 1): p. 1811-7.
48. Gonzalez-Barcena, D., M. Vadillo Buenfil, E. Garcia Procel, L. Guerra-Arguero, I. Cardenas Cornejo, A.M. Comaru-Schally, and A.V. Schally, Inhibition of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and sex-steroid levels in men and women with a potent antagonist analog of luteinizing hormone-releasing hormone, Cetrorelix (SB-75). *Eur J Endocrinol*, 1994. 131(3): p. 286-92.
49. Leroy, I., M. d'Acremont, S. Brailly-Tabard, R. Frydman, J. de Mouzon, and P. Bouchard, A single injection of a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist (Cetrorelix) postpones the luteinizing hormone (LH) surge: further

- evidence for the role of GnRH during the LH surge. *Fertil Steril*, 1994. 62(3): p. 461-7.
50. Nelson, L.R., V.Y. Fujimoto, R.B. Jaffe, and S.E. Monroe, Suppression of follicular phase pituitary-gonadal function by a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist with reduced histamine-releasing properties (ganirelix). *Fertil Steril*, 1995. 63(5): p. 963-9.
 51. Fauser, B.C.J.M. and P. Devroey, Why is the clinical acceptance of gonadotropin-releasing hormone antagonist cotreatment during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization so slow? *Fertility and Sterility*, 2005. 83(6): p. 1607-1611.
 52. Trounson, A.O., J.F. Leeton, C. Wood, J. Webb, and J. Wood, Pregnancies in humans by fertilization in vitro and embryo transfer in the controlled ovulatory cycle. *Science*, 1981. 212(4495): p. 681-2.
 53. Quigley, M.M., N.F. Maklad, and D.P. Wolf, Comparison of two clomiphene citrate dosage regimens for follicular recruitment in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril*, 1983. 40(2): p. 178-82.
 54. Messinis, I.E. and S.D. Milingos, Future use of clomiphene in ovarian stimulation. *Clomiphene in the 21st century. Hum Reprod*, 1998. 13(9): p. 2362-5.
 55. Ingerslev, H.J., A. Hojgaard, J. Hindkjaer, and U. Kesmodel, A randomized study comparing IVF in the unstimulated cycle with IVF following clomiphene citrate. *Hum Reprod*, 2001. 16(4): p. 696-702.
 56. Dhont, M., A. Onghena, T. Coetsier, and P. De Sutter, Prospective randomized study of clomiphene citrate and gonadotrophins versus goserelin and gonadotrophins for follicular stimulation in assisted reproduction. *Hum Reprod*, 1995. 10(4): p. 791-6.
 57. Engel, J.B., M. Ludwig, R. Felberbaum, C. Albano, P. Devroey, and K. Diedrich, Use of cetrorelix in combination with clomiphene citrate and gonadotrophins: a suitable approach to 'friendly IVF'? *Hum Reprod*, 2002. 17(8): p. 2022-6.
 58. Williams, S.C., W.E. Gibbons, S.J. Muasher, and S. Oehninger, Minimal ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization using sequential clomiphene

- citrate and gonadotropin with or without the addition of a gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Fertil Steril*, 2002. 78(5): p. 1068-72.
59. Baird, D.T., A model for follicular selection and ovulation: lessons from superovulation. *J Steroid Biochem*, 1987. 27(1-3): p. 15-23.
 60. Out, H.J., D.D. Braat, B.M. Lintsen, T. Gurgan, O. Bukulmez, O. Gokmen, G. Keles, P. Caballero, J.M. Gonzalez, F. Fabregues, J. Balasch, and R. Roulier, Increasing the daily dose of recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) does not compensate for the age-related decline in retrievable oocytes after ovarian stimulation. *Hum Reprod*, 2000. 15(1): p. 29-35.
 61. Yong, P.Y., S. Brett, D.T. Baird, and K.J. Thong, A prospective randomized clinical trial comparing 150 IU and 225 IU of recombinant follicle-stimulating hormone (Gonal-F*) in a fixed-dose regimen for controlled ovarian stimulation in in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril*, 2003. 79(2): p. 308-15.
 62. Tarlatzis, B.C., L. Zepiridis, G. Grimbizis, and J. Bontis, Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. *Hum Reprod Update*, 2003. 9(1): p. 61-76.
 63. Delvigne, A. and S. Rozenberg, Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Hum Reprod Update*, 2002. 8(6): p. 559-77.
 64. D'Angelo, A. and N. Amso, "Coasting" (withholding gonadotrophins) for preventing ovarian hyperstimulation syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*, 2002(3): p. CD002811.
 65. Daya, S., Updated meta-analysis of recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) versus urinary FSH for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Fertil Steril*, 2002. 77(4): p. 711-4.
 66. Daya, S., W. Ledger, J.P. Auray, G. Duru, K. Silverberg, M. Wikland, R. Bouzayen, C.M. Howles, and A. Beresniak, Cost-effectiveness modelling of recombinant FSH versus urinary FSH in assisted reproduction techniques in the UK. *Hum Reprod*, 2001. 16(12): p. 2563-9.
 67. Agrawal, R., J. Holmes, and H.S. Jacobs, Follicle-stimulating hormone or human menopausal gonadotropin for ovarian stimulation in in vitro fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 2000. 73(2): p. 338-43.

68. Dickey, R.P., M. Thornton, J. Nichols, D.C. Marshall, S.H. Fein, and R.V. Nardi, Comparison of the efficacy and safety of a highly purified human follicle-stimulating hormone (Bravelle) and recombinant follitropin-beta for in vitro fertilization: a prospective, randomized study. *Fertil Steril*, 2002. 77(6): p. 1202-8.
69. Diedrich, K., P. Devroey, S. Engels, J.P. Quartarolo, K.F. Hiller, K. Rudolf, K. Sterzik, v.d. Ven, H.C. Verhoeven, M. Dirnfeld, J. Dor, R. Ron-El, N. Laufer, D. Levran, E. Shalev, C. Jansen, A. Schmoutziguer, M. Germound, M. Haeberle, C. Kingsland, M. Johnson, L. Klentzeris, A. Murdoch, S. Sathanandan, N. Sharp, and E.I.S.G. Highly, Efficacy and safety of highly purified menotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a randomized, comparative trial. *Fertility and Sterility*, 2002. 78(3): p. 520-528.
70. van Wely, M., L.G. Westergaard, P.M. Bossuyt, and F. van der Veen, Effectiveness of human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 2003. 80(5): p. 1086-93.
71. Al-Inany, H., M. Aboulghar, R. Mansour, and G. Serour, Meta-analysis of recombinant versus urinary-derived FSH: an update. *Hum Reprod*, 2003. 18(2): p. 305-13.
72. Shaked, G.M., Y. Shaked, Z. Kariv-Inbal, M. Halimi, I. Avraham, and R. Gabizon, A protease-resistant prion protein isoform is present in urine of animals and humans affected with prion diseases. *J Biol Chem*, 2001. 276(34): p. 31479-82.
73. Duijkers, I.J., C. Klipping, P.J. Boerrigter, C.S. Machielsen, J.J. De Bie, and G. Voortman, Single dose pharmacokinetics and effects on follicular growth and serum hormones of a long-acting recombinant FSH preparation (FSH-CTP) in healthy pituitary-suppressed females. *Hum Reprod*, 2002. 17(8): p. 1987-93.
74. Beckers, N.G., N.S. Macklon, P. Devroey, P. Platteau, P.J. Boerrigter, and B.C. Fauser, First live birth after ovarian stimulation using a chimeric long-acting human recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) agonist (recFSH-CTP) for in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 2003. 79(3): p. 621-3.

75. Devroey, P., B.C. Fauser, P. Platteau, N.G. Beckers, M. Dhont, and B.M. Mannaerts, Induction of multiple follicular development by a single dose of long-acting recombinant follicle-Stimulating hormone (FSH-CTP, corifollitropin alfa) for controlled ovarian stimulation before in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. 89(5): p. 2062-70.
76. Edwards, R.G., R. Lobo, and P. Bouchard, Time to revolutionize ovarian stimulation. *Hum Reprod*, 1996. 11(5): p. 917-9.
77. Fleming, R., A.H. Adam, D.H. Barlow, W.P. Black, M.C. MacNaughton, and J.R. Coutts, A new systematic treatment for infertile women with abnormal hormone profiles. *Br J Obstet Gynaecol*, 1982. 89(1): p. 80-3.
78. Fleming, R. and J.R. Coutts, Induction of multiple follicular growth in normally menstruating women with endogenous gonadotropin suppression. *Fertil Steril*, 1986. 45(2): p. 226-30.
79. Janssens, R.M., C.B. Lambalk, J.P. Vermeiden, R. Schats, J.M. Bernards, L.T. Rekers-Mombarg, and J. Schoemaker, Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of a premature LH surge in IVF: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Hum Reprod*, 2000. 15(11): p. 2333-40.
80. Fleming, R., M.J. Haxton, M.P. Hamilton, G.S. McCune, W.P. Black, M.C. MacNaughton, and J.R. Coutts, Successful treatment of infertile women with oligomenorrhoea using a combination of an LHRH agonist and exogenous gonadotrophins. *Br J Obstet Gynaecol*, 1985. 92(4): p. 369-73.
81. Reissmann, T., A.V. Schally, P. Bouchard, H. Riethmiiller, and J. Engel, The LHRH antagonist cetrorelix: a review. *Hum Reprod Update*, 2000. 6(4): p. 322-31.
82. Frydman, R., I. Parneix, J. Belaisch-Allart, R. Forman, A. Hazout, H. Fernandez, and J. Testart, LHRH agonists in IVF: different methods of utilization and comparison with previous ovulation stimulation treatments. *Hum Reprod*, 1988. 3(4): p. 559-61.
83. Howles, C.M., M.C. Macnamee, and R.G. Edwards, Short term use of an LHRH agonist to treat poor responders entering an in-vitro fertilization programme. *Hum Reprod*, 1987. 2(8): p. 655-6.

84. Donderwinkel, P.F., D.C. Schoot, T.D. Pache, F.H. de Jong, W.C. Hop, and B.C. Fauser, Luteal function following ovulation induction in polycystic ovary syndrome patients using exogenous gonadotrophins in combination with a gonadotrophin-releasing hormone agonist. *Hum Reprod*, 1993. 8(12): p. 2027-32.
85. Cedrin-Durnerin, I., J.M. Bidart, P. Robert, J.P. Wolf, M. Uzan, and J.N. Hugues, Consequences on gonadotrophin secretion of an early discontinuation of gonadotrophin-releasing hormone agonist administration in short-term protocol for in-vitro fertilization. *Hum Reprod*, 2000. 15(5): p. 1009-14.
86. Beckers, N.G., J.S. Laven, M.J. Eijkemans, and B.C. Fauser, Follicular and luteal phase characteristics following early cessation of gonadotrophin-releasing hormone agonist during ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod*, 2000. 15(1): p. 43-9.
87. Urbancsek, J. and E. Witthaus, Midluteal busserelin is superior to early follicular phase busserelin in combined gonadotropin-releasing hormone analog and gonadotropin stimulation in in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 1996. 65(5): p. 966-71.
88. Pellicer, A., C. Simon, F. Miro, R.M. Castellvi, A. Ruiz, M. Ruiz, M. Perez, and F. Bonilla-Musoles, Ovarian response and outcome of in-vitro fertilization in patients treated with gonadotrophin-releasing hormone analogues in different phases of the menstrual cycle. *Hum Reprod*, 1989. 4(3): p. 285-9.
89. Chang, S.Y., C.L. Lee, M.L. Wang, M.L. Hu, Y.M. Lai, M.Y. Chang, and Y.K. Soong, No detrimental effects in delaying initiation of gonadotropin administration after pituitary desensitization with gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril*, 1993. 59(1): p. 183-6.
90. Daya, S., Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles. *Cochrane Database Syst Rev*, 2000(2): p. CD001299.
91. Felberbaum, R., T. Reissmann, C. Zoll, W. Kupker, S. al-Hasani, C. Diedrich, and K. Diedrich, [GnRH antagonists in gynecology: initial results within the scope of controlled ovarian hyperstimulation]. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch*, 1995. 35 Suppl 1: p. 113-7.

92. Olivennes, F., R. Fanchin, P. Bouchard, J. Taieb, J. Selva, and R. Frydman, Scheduled administration of a gonadotrophin-releasing hormone antagonist (Cetrorelix) on day 8 of in-vitro fertilization cycles: a pilot study. *Hum Reprod*, 1995. 10(6): p. 1382-6.
93. Ludwig, M., A. Katalinic, and K. Diedrich, Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*, 2001. 265(4): p. 175-82.
94. Itskovitz-Eldor, J., S. Kol, B. Mannaerts, and H. Coelingh Bennink, First established pregnancy after controlled ovarian hyperstimulation with recombinant follicle stimulating hormone and the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462). *Hum Reprod*, 1998. 13(2): p. 294-5.
95. Olivennes, F., S. Alvarez, P. Bouchard, R. Fanchin, J. Salat-Baroux, and R. Frydman, The use of a GnRH antagonist (Cetrorelix) in a single dose protocol in IVF-embryo transfer: a dose finding study of 3 versus 2 mg. *Hum Reprod*, 1998. 13(9): p. 2411-4.
96. Albano, C., J. Smitz, M. Camus, H. Riethmuller-Winzen, A. Van Steirteghem, and P. Devroey, Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril*, 1997. 67(5): p. 917-22.
97. Olivennes, F., J.S. Cunha-Filho, R. Fanchin, P. Bouchard, and R. Frydman, The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation. *Hum Reprod Update*, 2002. 8(3): p. 279-90.
98. Diedrich, K., C. Diedrich, E. Santos, C. Zoll, S. al-Hasani, T. Reissmann, D. Krebs, and D. Klingmuller, Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod*, 1994. 9(5): p. 788-91.
99. Mansour, R.T., M.A. Aboulghar, G.I. Serour, H.G. Al-Inany, Y.M. Amin, and A.M. Abou-Setta, The use of gonadotropin-releasing hormone antagonist in a flexible protocol: a pilot study. *Am J Obstet Gynecol*, 2003. 189(2): p. 444-6.
100. Aboulghar, M.A., R.T. Mansour, G.I. Serour, H.G. Al-Inany, Y.M. Amin, and M.M. Aboulghar, Increasing the dose of human menopausal gonadotrophins on

- day of GnRH antagonist administration: randomized controlled trial. *Reprod Biomed Online*, 2004. 8(5): p. 524-7.
101. Cedrin-Durnerin, I., D. Grange-Dujardin, A. Laffy, I. Parneix, N. Massin, J. Galey, L. Theron, J.P. Wolf, C. Conord, P. Clement, S. Jayot, and J.N. Hugues, Recombinant human LH supplementation during GnRH antagonist administration in IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod*, 2004. 19(9): p. 1979-84.
 102. Hohmann, F.P., N.S. Macklon, and B.C. Fauser, A randomized comparison of two ovarian stimulation protocols with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist cotreatment for in vitro fertilization commencing recombinant follicle-stimulating hormone on cycle day 2 or 5 with the standard long GnRH agonist protocol. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003. 88(1): p. 166-73.
 103. Huirne, J.A., R. Homburg, and C.B. Lambalk, Are GnRH antagonists comparable to agonists for use in IVF? *Hum Reprod*, 2007. 22(11): p. 2805-13.
 104. Pinkas, H., O. Sapir, O.M. Avrech, A. Ben-Haroush, J. Ashkenzi, B. Fisch, and J. Farhi, The effect of oral contraceptive pill for cycle scheduling prior to GnRH-antagonist protocol on IVF cycle parameters and pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet*, 2008. 25(1): p. 29-33.
 105. Griesinger, G., C.A. Venetis, T. Marx, K. Diedrich, B.C. Tarlatzis, and E.M. Kolibianakis, Oral contraceptive pill pretreatment in ovarian stimulation with GnRH antagonists for IVF: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*, 2008. 90(4): p. 1055-63.
 106. Kolibianakis, E.M., C. Albano, M. Camus, H. Tournaye, A.C. Van Steirteghem, and P. Devroey, Initiation of gonadotropin-releasing hormone antagonist on day 1 as compared to day 6 of stimulation: effect on hormonal levels and follicular development in in vitro fertilization cycles. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003. 88(12): p. 5632-7.
 107. Jones, H.W., Jr., What has happened? Where are we? *Hum Reprod*, 1996. 11 Suppl 1: p. 7-24; discussion 29-31.
 108. Smits, J., E. Van Den Abbeel, N. Bollen, M. Camus, P. Devroey, H. Tournaye, and A.C. Van Steirteghem, The effect of gonadotrophin-releasing hormone

- (GnRH) agonist in the follicular phase on in-vitro fertilization outcome in normo-ovulatory women. *Hum Reprod*, 1992. 7(8): p. 1098-102.
109. Herman, A., R. Ron-El, A. Golan, A. Raziel, Y. Soffer, and E. Caspi, Pregnancy rate and ovarian hyperstimulation after luteal human chorionic gonadotropin in in vitro fertilization stimulated with gonadotropin-releasing hormone analog and menotropins. *Fertil Steril*, 1990. 53(1): p. 92-6.
 110. Soliman, S., S. Daya, J. Collins, and E.G. Hughes, The role of luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of randomized trials. *Fertil Steril*, 1994. 61(6): p. 1068-76.
 111. Penzias, A.S., Luteal phase support. *Fertil Steril*, 2002. 77(2): p. 318-23.
 112. Albano, C., J. Smitz, H. Tournaye, H. Riethmuller-Winzen, A. Van Steirteghem, and P. Devroey, Luteal phase and clinical outcome after human menopausal gonadotrophin/gonadotrophin releasing hormone antagonist treatment for ovarian stimulation in in-vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Hum Reprod*, 1999. 14(6): p. 1426-30.
 113. Beckers, N.G., N.S. Macklon, M.J. Eijkemans, M. Ludwig, R.E. Felberbaum, K. Diedrich, S. Bustion, E. Loumaye, and B.C. Fauser, Nonsupplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation in in vitro fertilization patients after ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRH antagonist cotreatment. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003. 88(9): p. 4186-92.
 114. Pirard, C., J. Donnez, and E. Loumaye, GnRH agonist as novel luteal support: results of a randomized, parallel group, feasibility study using intranasal administration of buserelin. *Hum Reprod*, 2005. 20(7): p. 1798-804.
 115. Posaci, C., J. Smitz, M. Camus, K. Osmanagaoglu, and P. Devroey, Progesterone for the luteal support of assisted reproductive technologies: clinical options. *Hum Reprod*, 2000. 15 Suppl 1: p. 129-48.
 116. Pritts, E.A. and A.K. Atwood, Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Hum Reprod*, 2002. 17(9): p. 2287-99.

117. Nyboe Andersen, A., B. Popovic-Todorovic, K.T. Schmidt, A. Loft, A. Lindhard, A. Hojgaard, S. Ziebe, F. Hald, B. Hauge, and B. Toft, Progesterone supplementation during early gestations after IVF or ICSI has no effect on the delivery rates: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*, 2002. 17(2): p. 357-61.
118. Costea, D.M., L.K. Gunn, C. Hargreaves, R.J. Howell, and T. Chard, Delayed luteo-placental shift of progesterone production in IVF pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet*, 2000. 68(2): p. 123-9.
119. Ertzeid, G. and R. Storeng, Adverse effects of gonadotrophin treatment on pre- and postimplantation development in mice. *J Reprod Fertil*, 1992. 96(2): p. 649-55.
120. Van der Auwera, I. and T. D'Hooghe, Superovulation of female mice delays embryonic and fetal development. *Hum Reprod*, 2001. 16(6): p. 1237-43.
121. Ertzeid, G. and R. Storeng, The impact of ovarian stimulation on implantation and fetal development in mice. *Hum Reprod*, 2001. 16(2): p. 221-5.
122. Edwards, L.J., K.L. Kind, D.T. Armstrong, and J.G. Thompson, Effects of recombinant human follicle-stimulating hormone on embryo development in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005. 288(5): p. E845-51.
123. Valbuena, D., J. Martin, J.L. de Pablo, J. Remohi, A. Pellicer, and C. Simon, Increasing levels of estradiol are deleterious to embryonic implantation because they directly affect the embryo. *Fertil Steril*, 2001. 76(5): p. 962-8.
124. Ng, E.H., E.Y. Lau, W.S. Yeung, and P.C. Ho, Oocyte and embryo quality in patients with excessive ovarian response during in vitro fertilization treatment. *J Assist Reprod Genet*, 2003. 20(5): p. 186-91.
125. Ziebe, S., S. Bangsboll, K.L. Schmidt, A. Loft, A. Lindhard, and A. Nyboe Andersen, Embryo quality in natural versus stimulated IVF cycles. *Hum Reprod*, 2004. 19(6): p. 1457-60.
126. Whittingham, D.G., Culture of mouse ova. *J Reprod Fertil Suppl*, 1971. 14: p. 7-21.
127. De Vos, A., H. Van de Velde, H. Joris, and A. Van Steirteghem, In-vitro matured metaphase-I oocytes have a lower fertilization rate but similar embryo

- quality as mature metaphase-II oocytes after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 1999. 14(7): p. 1859-63.
128. Veeck, L.L., Atlas of the human oocyte and early conceptus. Vol. II. 1991: Baltimore: Williams & Wilkins.
 129. Ebner, T., M. Moser, M. Sommergruber, U. Gaiswinkler, O. Shebl, K. Jesacher, and G. Tews, Occurrence and developmental consequences of vacuoles throughout preimplantation development. *Fertil Steril*, 2005. 83(6): p. 1635-40.
 130. Scott, L., R. Alvero, M. Leondires, and B. Miller, The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blastocyst development and implantation. *Hum Reprod*, 2000. 15(11): p. 2394-403.
 131. Tesarik, J. and E. Greco, The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology. *Hum Reprod*, 1999. 14(5): p. 1318-23.
 132. Capmany, G., A. Taylor, P.R. Braude, and V.N. Bolton, The timing of pronuclear formation, DNA synthesis and cleavage in the human 1-cell embryo. *Mol Hum Reprod*, 1996. 2(5): p. 299-306.
 133. Shoukir, Y., A. Campana, T. Farley, and D. Sakkas, Early cleavage of in-vitro fertilized human embryos to the 2-cell stage: a novel indicator of embryo quality and viability. *Hum Reprod*, 1997. 12(7): p. 1531-6.
 134. Lundin, K., C. Bergh, and T. Hardarson, Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. *Hum Reprod*, 2001. 16(12): p. 2652-7.
 135. Van Royen, E., K. Mangelschots, D. De Neubourg, M. Valkenburg, M. Van de Meerssche, G. Ryckaert, W. Eestermans, and J. Gerris, Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. *Hum Reprod*, 1999. 14(9): p. 2345-9.
 136. de Mouzon, J., V. Goossens, S. Bhattacharya, J.A. Castilla, A.P. Ferraretti, V. Korsak, M. Kupka, K.G. Nygren, and A. Nyboe Andersen, Assisted reproductive technology in Europe, 2006: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*, 2010. 25(8): p. 1851-62.

137. Arce, J.C., A. Nyboe Andersen, and J. Collins, Resolving methodological and clinical issues in the design of efficacy trials in assisted reproductive technologies: a mini-review. *Hum Reprod*, 2005. 20(7): p. 1757-71.
138. Albano, C., R.E. Felberbaum, J. Smits, H. Riethmuller-Winzen, J. Engel, K. Diedrich, P. Devroey, and E.C.S. Grp, Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. *Human Reproduction*, 2000. 15(3): p. 526-531.
139. Felberbaum, R.E., C. Albano, M. Ludwig, H. Riethmuller-Winzen, M. Grigat, P. Devroey, K. Diedrich, and E.C.S. Grp, Ovarian stimulation for assisted reproduction with HMG and concomitant midcycle administration of the GnRH antagonist Cetrorelix according to the multiple dose protocol: a prospective uncontrolled phase III study. *Human Reproduction*, 2000. 15(5): p. 1015-1020.
140. Olivennes, F., J. Belaisch-Allart, J.C. Emperaire, H. Dechaud, S. Alvarez, L. Moreau, B. Nicollet, J.R. Zorn, P. Bouchard, and R. Frydman, Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetrorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin). *Fertility and Sterility*, 2000. 73(2): p. 314-320.
141. Olivennes, F., R. Fanchin, P. Bouchard, D. Deziegler, J. Taieb, J. Selva, and R. Frydman, The Single or Dual Administration of the Gonadotropin-Releasing-Hormone Antagonist Cetrorelix in an in-Vitro Fertilization-Embryo Transfer Program. *Fertility and Sterility*, 1994. 62(3): p. 468-476.
142. van Hooren, H.G. and E.M.E.O. Study, Comparable clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH surges in women undergoing ovarian stimulation. *Human Reproduction*, 2001. 16(4): p. 644-651.
143. Borm, G. and B. Mannaerts, Treatment with the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone is effective, safe and convenient: results of a controlled, randomized, multicentre trial. The European Orgalutran Study Group. *Hum Reprod*, 2000. 15(7): p. 1490-8.

144. Fluker, M., J. Grifo, A. Leader, M. Levy, D. Meldrum, S.J. Muasher, J. Rinehart, Z. Rosenwaks, R.T. Scott, Jr., W. Schoolcraft, and D.B. Shapiro, Efficacy and safety of ganirelix acetate versus leuprolide acetate in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril*, 2001. 75(1): p. 38-45.
145. Kolibianakis, E.M., J. Collins, B.C. Tarlatzis, P. Devroey, K. Diedrich, and G. Griesinger, Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 2006. 12(6): p. 651-71.
146. Al-Inany, H. and M. Aboulghar, GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod*, 2002. 17(4): p. 874-85.
147. Nikolettos, N., S. Al-Hasani, R. Felberbaum, L.C. Demirel, W. Kupker, P. Montzka, Y.X. Xia, B. Schopper, R. Sturm, and K. Diedrich, Gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol: a novel method of ovarian stimulation in poor responders. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2001. 97(2): p. 202-7.
148. Malmusi, S., A. La Marca, S. Giulini, S. Xella, D. Tagliasacchi, T. Marsella, and A. Volpe, Comparison of a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist and GnRH agonist flare-up regimen in poor responders undergoing ovarian stimulation. *Fertil Steril*, 2005. 84(2): p. 402-6.
149. Berin, I., D.E. Stein, and M.D. Keltz, A comparison of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist and GnRH agonist flare protocols for poor responders undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 2010. 93(2): p. 360-3.
150. Seelig, A.S., S. Al-Hasani, A. Katalinic, B. Schopper, R. Sturm, K. Diedrich, and M. Ludwig, Comparison of cryopreservation outcome with gonadotropin-releasing hormone agonists or antagonists in the collecting cycle. *Fertil Steril*, 2002. 77(3): p. 472-5.
151. Medved, R., I. Virant-Klun, H. Meden-Vrtovec, and T. Tomazevic, Outcome of frozen-thawed blastocysts derived from gonadotropin releasing hormone agonist or antagonist cycles. *J Assist Reprod Genet*, 2006. 23(6): p. 275-9.
152. Lee, J.R., Y.S. Choi, B.C. Jee, S.Y. Ku, C.S. Suh, K.C. Kim, W.D. Lee, and S.H. Kim, Cryopreserved blastocyst transfer: impact of gonadotropin-releasing

- hormone agonist versus antagonist in the previous oocyte retrieval cycles. *Fertil Steril*, 2007. 88(5): p. 1344-9.
153. Griesinger, G., R. Felberbaum, and K. Diedrich, GnRH antagonists in ovarian stimulation: a treatment regimen of clinicians' second choice? Data from the German national IVF registry. *Hum Reprod*, 2005. 20(9): p. 2373-5.
 154. Baart, E.B., E. Martini, I. van den Berg, N.S. Macklon, R.J. Galjaard, B.C. Fauser, and D. Van Opstal, Preimplantation genetic screening reveals a high incidence of aneuploidy and mosaicism in embryos from young women undergoing IVF. *Hum Reprod*, 2006. 21(1): p. 223-33.
 155. Albano, C., R.E. Felberbaum, J. Smits, H. Riethmuller-Winzen, J. Engel, K. Diedrich, and P. Devroey, Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetrorelix Study Group. *Hum Reprod*, 2000. 15(3): p. 526-31.
 156. Olivennes, F., J. Belaisch-Allart, J.C. Emperaire, H. Dechaud, S. Alvarez, L. Moreau, B. Nicollet, J.R. Zorn, P. Bouchard, and R. Frydman, Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetrorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin). *Fertil Steril*, 2000. 73(2): p. 314-20.
 157. Barmat, L.I., S.J. Chantilis, B.S. Hurst, and R.P. Dickey, A randomized prospective trial comparing gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist/recombinant follicle-stimulating hormone (rFSH) versus GnRH-agonist/rFSH in women pretreated with oral contraceptives before in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 2005. 83(2): p. 321-30.
 158. Kurzawa, R., P. Ciepiela, T. Baczkowski, K. Safranow, and P. Brelik, Comparison of embryological and clinical outcome in GnRH antagonist vs. GnRH agonist protocols for in vitro fertilization in PCOS non-obese patients. A prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet*, 2008. 25(8): p. 365-74.
 159. Fleming, R., P. Rehka, N. Deshpande, M.E. Jamieson, R.W. Yates, and H. Lyall, Suppression of LH during ovarian stimulation: effects differ in cycles stimulated

- with purified urinary FSH and recombinant FSH. *Hum Reprod*, 2000. 15(7): p. 1440-5.
160. Shoham, Z., The clinical therapeutic window for luteinizing hormone in controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*, 2002. 77(6): p. 1170-7.
 161. Griesinger, G., A. Schultze-Mosgau, K. Dafopoulos, A. Schroeder, A. Schroer, S. von Otte, D. Hornung, K. Diedrich, and R. Felberbaum, Recombinant luteinizing hormone supplementation to recombinant follicle-stimulating hormone induced ovarian hyperstimulation in the GnRH-antagonist multiple-dose protocol. *Hum Reprod*, 2005. 20(5): p. 1200-6.
 162. Kolibianakis, E.M., J. Collins, B. Tarlatzis, E. Papanikolaou, and P. Devroey, Are endogenous LH levels during ovarian stimulation for IVF using GnRH analogues associated with the probability of ongoing pregnancy? A systematic review. *Hum Reprod Update*, 2006. 12(1): p. 3-12.
 163. Loumaye, E., P. Engrand, Z. Shoham, S.G. Hillier, and D.T. Baird, Clinical evidence for an LH 'ceiling' effect induced by administration of recombinant human LH during the late follicular phase of stimulated cycles in World Health Organization type I and type II anovulation. *Hum Reprod*, 2003. 18(2): p. 314-22.
 164. Hugues, J.N., J. Soussis, I. Calderon, J. Balasch, R.A. Anderson, and A. Romeu, Does the addition of recombinant LH in WHO group II anovulatory women over-responding to FSH treatment reduce the number of developing follicles? A dose-finding study. *Hum Reprod*, 2005. 20(3): p. 629-35.
 165. Filicori, M., G.E. Cognigni, E. Gamberini, L. Parmegiani, E. Troilo, and B. Roset, Efficacy of low-dose human chorionic gonadotropin alone to complete controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*, 2005. 84(2): p. 394-401.
 166. Balasch, J., M. Creus, F. Fabregues, S. Civico, F. Carmona, B. Puerto, R. Casamitjana, and J.A. Vanrell, The effect of exogenous luteinizing hormone (LH) on oocyte viability: evidence from a comparative study using recombinant human follicle-stimulating hormone (FSH) alone or in combination with recombinant LH for ovarian stimulation in pituitary-suppressed women undergoing assisted reproduction. *J Assist Reprod Genet*, 2001. 18(5): p. 250-6.

167. Kolibianakis, E.M., K. Zikopoulos, J. Schiettecatte, J. Smitz, H. Tournaye, M. Camus, A.C. Van Steirteghem, and P. Devroey, Profound LH suppression after GnRH antagonist administration is associated with a significantly higher ongoing pregnancy rate in IVF. *Hum Reprod*, 2004. 19(11): p. 2490-6.
168. Merviel, P., J.M. Antoine, E. Mathieu, F. Millot, J. Mandelbaum, and S. Uzan, Luteinizing hormone concentrations after gonadotropin-releasing hormone antagonist administration do not influence pregnancy rates in in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*, 2004. 82(1): p. 119-25.
169. Selman, H.A., M. De Santo, K. Sterzik, E. Coccia, and I. El-Danasouri, Effect of highly purified urinary follicle-stimulating hormone on oocyte and embryo quality. *Fertil Steril*, 2002. 78(5): p. 1061-7.
170. Baker, V.L., V.Y. Fujimoto, L.M. Kettel, G.D. Adamson, F. Hoehler, C.E. Jones, and M.R. Soules, Clinical efficacy of highly purified urinary FSH versus recombinant FSH in volunteers undergoing controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization: a randomized, multicenter, investigator-blind trial. *Fertil Steril*, 2009. 91(4): p. 1005-11.
171. Bergh, C., C.M. Howles, K. Borg, L. Hamberger, B. Josefsson, L. Nilsson, and M. Wikland, Recombinant human follicle stimulating hormone (r-hFSH; Gonal-F) versus highly purified urinary FSH (Metrodin HP): results of a randomized comparative study in women undergoing assisted reproductive techniques. *Hum Reprod*, 1997. 12(10): p. 2133-9.
172. Frydman, R., C.M. Howles, and F. Truong, A double-blind, randomized study to compare recombinant human follicle stimulating hormone (FSH; Gonal-F) with highly purified urinary FSH (Metrodin) HP) in women undergoing assisted reproductive techniques including intracytoplasmic sperm injection. The French Multicentre Trialists. *Hum Reprod*, 2000. 15(3): p. 520-5.
173. Abate, A., A. Nazzaro, A. Salerno, F. Marzano, M.R.P. Cossut, and M. Perino, Efficacy of recombinant versus human derived follicle stimulating hormone on the oocyte and embryo quality in IVF-ICSI cycles: Randomised, controlled, multi-centre trial. *Gynecological Endocrinology*, 2009. 25(8): p. 479-484.
174. Pacchiarotti, A., C. Aragona, R. Gaglione, and H. Selman, Efficacy of a combined protocol of urinary and recombinant follicle-stimulating hormone

- used for ovarian stimulation of patients undergoing ICSI cycle. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 2007. 24(9): p. 400-405.
175. Veeck, L.L., Oocyte assessment and biological performance. *Ann N Y Acad Sci*, 1988. 541: p. 259-74.
 176. Daya, S. and J. Gunby, Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Hum Reprod*, 1999. 14(9): p. 2207-15.
 177. Coomarasamy, A., M. Afnan, D. Cheema, F. van der Veen, P.M.M. Bossuyt, and M. van Wely, Urinary hMG versus recombinant FSH for controlled ovarian hyperstimulation following an agonist long down-regulation protocol in IVF or ICSI treatment: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction*, 2008. 23(2): p. 310-315.
 178. Al-Inany, H.G., A.M. Abou-Setta, M.A. Aboulghar, R.T. Mansour, and G.I. Serour, Highly purified hMG achieves better pregnancy rates in IVF cycles but not ICSI cycles compared with recombinant FSH: a meta-analysis. *Gynecological Endocrinology*, 2009. 25(6): p. 372-378.
 179. Lehert, P., J.C. Schertz, and D. Ezcurra, Recombinant human follicle-stimulating hormone produces more oocytes with a lower total dose per cycle in assisted reproductive technologies compared with highly purified human menopausal gonadotrophin: a meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol*, 2010. 8(1): p. 112.

9. Saját publikációk jegyzéke

9.1. A doktori értekezés témájában megjelent közlemények

1. Urbancsek J, Hauzman E, Fancsovits P, **Murber Á**, Pappné RJ, Tóthné GZs, Papp Z (2002): A GnRH-antagonista cetrorelix egyszeri és többszöri adagolási séma szerinti alkalmazásával szerzett tapasztalatok összehasonlítása in vitro fertilisációs kezelések során. Magyar Nőorvosok Lapja 65, 147-153
2. Urbancsek J, **Murber Á** (2005): Petefészek stimulációs kezelések a szervezeten kívüli megtermékenyítés során. MOTESZ Magazin 2005/3: 54-60
3. Urbancsek J, Fancsovits P, **Murber Á**, Tóthné GZS, Hauzman E, Papp Z (2006): In vitro fertilizációs kezelések klinikánkon: tíz év munkája a számok és eredmények tükrében (1994-2003). Orvosi Hetilap 147 (1): 7-14
4. **Murber Á**, Ledó N, Fancsovits P, Tóthné GZs, Rigó J jr., Urbancsek J (2009): In vitro fertilizáció (IVF) kezelések során alkalmazott stimulációs protokollok hatása a petesejt- és embrióminőségére valamint a korai embriófejlődésre. Magyar Nőorvosok Lapja 73, 23-29
5. **Murber Á**, Fancsovits P, Ledó N, Tóthné GZS, Rigó J, Urbancsek J (2009): Impact of GnRH analogues on oocyte/embryo quality and embryo development in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a case control study. Reproductive Biology and Endocrinology 2009, 7:103. **IF: 2,08**
6. **Murber Á**, Fancsovits P, Ledó N, Szakács M, Rigó J jr., Urbancsek J (2010): Impact of highly purified versus recombinant follicle stimulating hormone on oocyte quality and embryo development in intracytoplasmic sperm injection cycles. Acta Biologica Hungarica (közlés alatt) **IF: 0,551**

9.2. A tudományos munkásságot megalapozó egyéb közlemények

1. Urbancsek J, **Murber Á** (2002): Asszisztált reprodukció cukorbetegségben. Granum, V./5. 43-44.
2. **Murber Á**, Urbancsek J (2003): Asszisztált reprodukció: a meddőség kivizsgálása és kezelése. Családorvosi Fórum 2003/10 26-30.

3. Joó J, Gávai M, Urbancsek J, **Murber Á**, Papp Z (2004): Anusatrésia és rectovaginalis fisztula újszülöttkori, valamint uterus subseptus felnőttkori műtétjét követően, IVF-ET technikával fogant és kiviselt terhesség esete. Magyar Nőorvosok Lapja 67: 81-83
4. **Murber Á**, Fancsovits P, Urbancsek J (2005): In vitro fertilizációs kezelés késői szövődményeként létrejött adnextorsio a terhesség első trimeszterében. Magyar Nőorvosok Lapja 68: 271-274
5. **Murber Á**, Fancsovits P, Szendei Gy, Urbancsek J. (2005): Intrauterin inszeminációs kezelések eredményessége az I. Számú Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika Asszisztált Reprodukciós Osztályának 10 éves működése során. Magyar Nőorvosok Lapja 68: 245-249
6. Urbancsek J, **Murber Á**, Hauzman E, Takács FZ, Papp Z (2005): Asszisztált reprodukció cukorbetegségben. IVF hatása a szénhidrát-anyagcserére, IVF praegestatiós diabetesben. Diabetologica Hungarica 12 (2) 89-92
7. Urbancsek J, **Murber Á** (2005): Asszisztált reprodukciós technikával fogant terhességek gondozásának sajátos szempontjai. In: A várandós nő gondozása (Szerk. Rigó J, Papp Z) Medicina Könyvkiadó, Budapest: 605-615
8. Fancsovits P, Tóth L, **Murber Á**, Szendei Gy, Papp Z, Urbancsek J (2005): Catheter type does not affect the outcome of intrauterine insemination treatment: a prospective randomised study. Fertil Steril 83: 699-704 **IF: 3,17**
9. Urbancsek J, Hauzman E, **Murber Á**, Lagarde AR, Rabe T, Papp Z, Strowitzki T (2005): Serum CA-125 and inhibin B levels in the prediction of ovarian response to gonadotrophin stimulation in IVF cycles. Gynecol Endocrinol 21 (1): 38-44 **IF: 0,87**
10. Fancsovits P, Tóth L, Takács FZ, **Murber Á**, Papp Z, Urbancsek J (2005): Early pronuclear breakdown is a good indicator of embryo quality and viability. Fertil Steril 84: 881-887 **IF: 3,17**
11. Hauzman E, Lagarde AR, Fancsovits P, **Murber Á**, Jánoki Gy, Papp Z, Urbancsek J (2005): Prognostic value of serum CA-125 measurements on

- stimulation day 1 and on the day of oocyte pickup in the prediction of IVF treatment outcome. *J Ass Reprod and Gen* 22: 265-268 **IF: 0,963**
12. Gávai M, Beke A, Urbancsek J, **Murber Á** (2006): Kartagener-syndromás nő kiviselt ikerterhessége. *Magyar Nőorvosok Lapja* 69: 157-160
 13. Hauzman E, **Murber Á**, Fancsovits P, Papp Z, Urbancsek J (2006): In vitro fertilizáció útján fogant terhességek kimenetelének előrejelzése biokémiai markerekkel. *Orvosi Hetilap* 147 (30): 17-28
 14. Fancsovits P, Takács FZ, Tóthné GZS, **Murber Á**, Urbancsek J (2006): In vitro fertilizációs kezelések során nyert petesejtekben megfigyelhető vacuolumok hatása a paeembryok életképességére. *Magyar Nőorvosok Lapja* 69: 429-437
 15. Hauzman E, Fancsovits P, **Murber Á**, Rabe T, Strowitzki T, Papp Z, Urbancsek J (2006): Luteal-phase inhibin A and follicular-phase inhibin B levels are not characteristic of patients with an elevated LH-to-FSH ratio. *J Assist Reprod Genet* 23: 141-147 **IF: 0,963**
 16. Fancsovits P, Tóthné GZS, **Murber Á**, Takács FZ, Papp Z, Urbancsek J (2006): Correlation between first polar body morphology and further embryo development. *Acta Biol Hung* 57 (3): 331-338 **IF: 0,425**

9.3. Idézhető előadáskivonatok

1. Urbancsek J, Fedorcsák P, Dévényi N, **Murber Á**, Sztanyik L, Inovay J, Szendei Gy, Papp Z Obesity is associated with decreased luteal phase progesterone levels. (1999) *Fertil Steril* 70 (3) Suppl 1, 473-474
2. Urbancsek J, **Murber Á**, Vass Z, Bárándi Zs, Sztanyik L, Papp Z (1999) Comparison of two GnRH-agonists for combined GnRH-agonist gonadotropin stimulation in an IF-ET program. Abstracts of the 11th World Congress in In Vitro Fertilization and Human Reproductive Genetics, 9-14. May 1999. Sydney, Australia, pp: 258

3. Urbancsek J, Fedorcsák P, **Murber Á**, Vass Z, Bárándi Zs, Sztanyik L, Papp Z (1999) Extended long-term down regulation with GnRH-agonist improves IVF outcome. Hum Reprod 14 (Abstract book 1): 307
4. Urbancsek J, Hauzman E, **Murber Á**, Klinga K, Rabe T, Strowitzki T, Papp Z (2001) Serum inhibin B levels before start of gonadotrophin treatment can predict ovarian response in combined GnRH-analogue + gonadotrophin stimulation. Hum Reprod 16 (Abstract book 1): 149-150
5. **Murber Á**, Fancsovits P, Tóthné G Zs, Hauzman E, Papp Z, Urbancsek J (2002) Effect of catheter type on the outcome of intrauterine insemination cycles. A prospective randomized study. Hum Reprod 17 (Abstract book 1) 118-119
6. Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K, Rabe T, **Murber Á**, Strowitzki T (2002) Clinical significance of early inhibin A measurements in the prediction of IVF pregnancy outcomes. Fetal Diagnosis and Therapy 17 (Suppl 1): 32-33
7. Fancsovits P, Tóthné GZ, Takács FZ, **Murber Á**, Papp Z, Urbancsek J (2006) Factors affecting multinucleation in human embryos. Hum Reprod 21 (Suppl 1) p: 158
8. Fancsovits P, Rusz A, Gilán ZT, **Murber Á**, Horváth LZ, Hauzmann EE, Romics I, Rigó J Jr, Urbancsek J (2008) Quality of testicular tissue does not influence the outcome of in-vitro fertilization treatments. Reprod Biomed Online 16 (suppl 4): S-29
9. Fancsovits P, Rusz A, **Murber Á**, Hauzman E, Tóthné GZ, Horváth LZ, Romics I, Rigó J, Urbancsek J (2008) Effect of testicular sperm motility on the outcome of TESE-ICSI treatment. Hum Reprod 23 (Suppl 1): 71-72
10. Fancsovits P, Tóthné GZS, **Murber Á**, Horváth LZ, Papp Z, Rigó J Jr, Urbancsek J (2009) Use of human-derived FSH versus recombinant FSH results in more embryos suitable for cryopreservation Final Program and Abstracts of the 15th World Congress on In Vitro Fertilization and 4th World Congress of In vitro Maturation, April 19-22, 2009, Geneva, Switzerland
11. Horváth LZ, Fancsovits P, **Murber Á**, Tóthné GZ, Rigó J Jr, Urbancsek J.: Correlation between zona pellucida thickness and morphological characteristics of human embryos in IVF treatments. IFFS 20th World Congress of Fertility and

Sterility, Munich, Germany, September 12-16, 2010. Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology 2010,7:264.

12. Fancsovits P, **Murber Á**, Tóthné GZs, Horváth LZ, Ledo N, Rigó J Jr., Urbancsek J: Human oocyte containing large cytoplasmic vacuole can result in pregnancy and viable offspring. IFFS 20th World Congress of Fertility and Sterility, Munich, Germany, September 12-16, 2010. Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology 2010,7:274.

10. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik szerepvállalásukkal hozzájárultak a doktori értekezésem elkészüléséhez. Köszönöm a Klinika igazgató professzorainak, dr. Papp Zoltán és dr. Rigó János professzor uraknak mindazt a bizalmat, emberi és szakmai támogatást, amellyel kezdettől fogva segítettek klinikai és tudományos munkám.

Köszönöm téma- és osztályvezetőmnek dr. Urbancsek János egyetemi tanárnak bizalmát, segítségét és tanítását. Köszönöm, hogy medikus koromtól fogva támogatott és munkatársaként az együtt töltött 12 év alatt bátorított, hitét és szakmai tudását átadta. Precizitása, emberi és szakmai alázata mértékadó volt számomra mind a klinikai, mind a tudományos munkában.

Köszönöm az Embriológiai Laboratorium munkatársainak, dr. Fancsovits Péter embriológusnak és Tóth Lászlóné vezető embriológiai szakasszisztensnek kitartó, pontos és önzetlen munkáját, mellyel az Osztály klinikai és tudományos eredményességéhez nagymértékben hozzájárultak.

Köszönet illeti az Asszisztált Reprodukciós Osztály valamennyi korábbi és jelenlegi munkatársát mindazért a segítségért, amellyel támogatták tudományos munkámat. Külön köszönöm dr. Hauzman Eriknek biometriai tanácsait, melyek segítségemre voltak a tudományos munkák megtervezésében.

Köszönöm dr. Rusz Andrásnak, dr. Riesz Péternek és a Semmelweis Egyetem Urológiai Klinika munkatársainak, hogy az IVF-kezelések során szükséges andrológiai vizsgálatok, valamint herebiopsziák elvégzésével segítséget nyújtottak osztályunk munkájához.

Köszönöm Ledó Nóra és Szakács Miklós TDK-s orvostanhallgatónak adatgyűjtésben, -feldolgozásban és -értékelésben nyújtott segítségét.

Hálával gondolok Urbanek Rudolf piarista biológiatanáromra és dr. Nagy A. Péter szájsebész főorvosra, akik középiskolás koromban életük példájával hozzájárultak ahhoz, hogy az orvosi hivatást válasszam.

Köszönöm Édesapámnak és Édesanyámnak, hogy már gyermekkoromban elindítottak a tudományos gondolkodás felé. Szeretném hálámat és köszönetemet kifejezni feleségemnek és két kisfiamnak, akik megértésükkel és támogatásukkal segítették munkámat.