

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**Heredaganatos betegek fertilitása: genetikai, epigenetikai és funkcionális
spermium vizsgálatok**

Dr. Molnár Zsuzsanna

Témavezető: Dr. Jakab Attila



DEBRECENI EGYETEM
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2014

Heredaganatos betegek fertilitása: genetikai, epigenetikai és funkcionális spermium vizsgálatok

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Molnár Zsuzsanna okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok doktori iskolája
(Klinikai Vizsgálatok Doktori Programja) keretében

Témavezető: Dr. Jakab Attila, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Hernádi Zoltán, az MTA doktora
tagok: Dr. Bereczky Zsuzsanna, PhD
Dr. Riesz Péter, PhD

A doktori szigorlat időpontja:

DE ÁOK Szülészeti és Nőgyógyászati Tanszék könyvtára
2014. november 7. 10:00 óra

Az értekezés bírálói:

Dr. Kopa Zsolt, PhD
Dr. Penyige András, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Hernádi Zoltán, az MTA doktora
tagok: Dr. Bereczky Zsuzsanna, PhD
Dr. Kopa Zsolt, PhD
Dr. Penyige András, PhD
Dr. Riesz Péter, PhD

Az értekezés védésének időpontja:

DE ÁOK Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme
2014. november 7. 12:00 óra

1. Bevezetés

A diagnosztika, a kemoterápia és irradiációs kezelések területén végbement fejlődésnek köszönhetően, a reproduktív életkorban jelentkező tumorerő túlélése napjainkra jelentősen javult. A leggyakoribb fiatalokri solid tumor a hererák, melynek incidenciája az elmúlt évtizedekben jelentősen nőtt. Emiatt egyre nagyobb figyelem fordul a tumorelles kezelés késői szövődményéből, az esetleges gondatoxicitásból eredő infertilitásra. A fertilitás megőrzésére ezen betegcsoportban a napi gyakorlat szintjén felmerül az igény. A kezelés előtti spermium fagyasztás lehetőséget ad a későbbi gyermekvállalásra, akkor is, ha a kezelés, mely a túlélést, gyógyulást jelenti, infertilitást okoz.

A fagyasztva tárolt minták minőségi jellemzőiről kevés adat áll rendelkezésre, mivel eddig csak kis esetszámú vizsgálatok történtek. Nagyobb tanulmányok a kemoterápia hatását vizsgálják. Bár a napi rutin diagnosztikában alkalmazott WHO V. szerinti ejakulátum elemzés a nemzőképeség megítélésére még napjainkban is gold standardként számon tartott módszer, nagyon fontos ebben a speciális betegcsoportban nem csak a kvantitatív, hanem a kvalitatív elemzések elvégzése is. Ismert, hogy a spermigram elemei (spermium koncentráció, motilitás, morfológia) nincsenek szoros összefüggésben az adott minta genetikai, funkcionális jellemzőivel sem a fertilizációs képességgel. A tumoros folyamat, illetve az általa triggerelt faktorok spermatogenezisre kifejtett közvetlen hatásának mechanizmusa sem teljes mértékben tisztázott még.

Jelen disszertáció áttekinti a heretumor klinikai jelentőségét, etiológiáját, csoportosítását, kezelési lehetőségeit és a prognózist. Kiemelten foglalkozik a heredaganat és az infertilitás kapcsolatával, amely háttérben állhat egyrészt a közös

etiológia, másrészt a daganatos betegség direkt hatásából és a tumorelles kezelés gonadotoxikus szövödményéből tevődik össze.

A dolgozatban leírt vizsgálatok a fertilitás megörzésének lehetőségét, ennek gyakorlati vonatkozásait célozzák heretumoros és infertilis betegekben. Leíró és experimentális módszerekkel vizsgáljuk a heretumoros betegek spermatogenezisét és fertilitási prognózisát. Összehasonlítás történik a normál, és infertilis esetben talált eredményekkel, mely elemzés betekintést ad a heretumor spermatogenezisre kifejtett hatására.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Heretumor

A here csírasejt eredetű tumora az összes malignus megbetegedés közel 1%-át, az összes urológiai daganat 5%-át teszi ki. Ugyanakkor a 15 és 40 év közötti férfiak leggyakoribb rosszindulatú solid daganata. Előfordulási gyakorisága az utóbbi 40 évben világszerte több mint kétszeresére nőtt. A nyugat-európai országokban a heretumor előfordulása 6-8/100 000 fő. A Nemzeti Rákregiszter adatai szerint Magyarországon 2012-ben 645 új heretumoros megbetegedés fordult elő. A bejelentett esetek életkori megoszlására jellemző, hogy az életkori csúcs 30 és 40 év között van, a betegek 59%-a (378/645) pedig 40 évesnél fiatalabb.

A heredaganat pontos oka nem ismert. A betegek száma elsősorban az iparilag fejlett országokban emelkedik, ami környezeti tényezők szerepére utal. Az ismert veleszületett hajlamosító tényezők közül a cryptorchizmus a legelfogadottabb, kockázati valószínűsége 5,3. A heredaganat ismert családi előfordulása miatt a genetikai háttér szerepe is felvetődött. Heredaganatos beteg testvérének kockázati valószínűsége 8-10-szeres, daganatos apa fiának heredaganat kialakulásának valószínűsége 4-6-szoros.

A rosszindulatú heredaganat több mint 93%-a csírasejt eredetű tumor. Klinikai szempontból célszerű a csírasejt típusú heredaganatokat két nagy szövettani csoportra, seminoma és non-seminoma típusú daganatokra osztani, mivel ez a kezelést és a prognózist egyaránt meghatározza.

Az intratubularis csírasejt tumorról (ITGCN vagy carcinoma in situ) általánosan elfogadott, hogy felnőttekben az invazív heredaganat prekursora mind seminomák, mind a non-seminomák esetén. Ismert az is, hogy infertilitás miatt végzett herebiopszia kapcsán gyakrabban látható az ITGCN, 0–3,5% közötti eredményekről számolnak be a tanulmányok, az átlagos előfordulás 0,74%. Jacobsen és munkacsoportja tanulmányukban megállapítja, hogy infertilis betegek hererák kockázata 1,6-szeres a normál spermium paraméterekkel rendelkezőkhöz képest. Raman ezzel szemben hererák kialakulására 20 x nagyobb rizikót detektál infertilis férfiak esetén, mint bizonyítottan fertilis egyéneknél.

Epidemiológiai tanulmányok elemzése, valamint annak megfigyelése, hogy a heretumor, infertilitás, hereleszállási zavar, hypospadiasis gyakorisága az elmúlt évtizedekben nőtt, együttesen alapoza meg a testicularis dysgenesis syndrome (TDS) felismerését. Genetikai tényezők és környezeti faktorok együtt alakítják ki a kórképet. A fiúmagzatot embrionális fejlődése során érő noxa okoz a here szomatikus és germinális sejtjeiben is változást. Az Leydig sejtek funkciózavar androgén elégtelenséghez, ezen keresztül pedig hereleszállási zavarhoz, hypospadiasis kialakulásához vezet. A Sertolli sejtek funkciózavara rendellenes csírasejt differenciációt eredményez, mely megnyilvánulásai a microlithiasis, heretumor és infertilitás. A testicularis dysgenesis syndrome tünetei időben nem egyszerre jelentkeznek, sorrendiség nem meghatározható. Nem minden tünet jelentkezik minden betegnél. Minél súlyosabb azonban a TDS, annál nagyobb a valószínűsége annak, hogy heretumor alakul ki.

A heredaganat megalapozott gyanúja esetén az első választandó kezelés (kevés kivételtől eltekintve) a primer tumor eltávolítása, melyre alkalmazott eljárása a

radikális inguinalis semicastratio. A heretumor további kezelése a semicastratiót követő szövettani vizsgálat, a stádium besorolás és a szérum tumormarker vizsgálatok eredményének függvénye.

A prognózis függ a heretumor szövettani képétől (seminoma vagy non-seminoma), a stádiumtól, és olyan tényezőktől, mint a tumormarkerek szintje és a távoli metasztázis elhelyezkedése. Jó prognózisú seminoma esetén (esetek 90%-a) az 5 éves túlélés 86%-os, jó prognózisú non-seminoma esetén (összes non-seminoma eset 56%-a) 92-94%.

2.2. Tumorelles kezelés hatása a fertilitásra

A kemoterápia gonadotoxikus hatása sokat vizsgált kérdés. A reprodukív rendszerre legártalmasabb kemoterapeutikumok a nitrogénmustár származékok, mint például a busulfan és melfalan, és az alkiláló szerek, mint például a cyclophosphamid és procarbazin. A csírasejtes heretumoros betegeknél alkalmazott bleomycin, etoposid, és cisplatin (BEP) protokoll közepes rizikót jelent a fertilitás megszűnésére vonatkozóan.

A hereszövet, különösen a germinális sejtek érzékeny a sugárkezelésre. 4Gy-nél nagyobb dózis alkalmazása visszafordíthatatlanul károsítja a csírasejteket, és meddőséget okoz. A Leydig sejtek ellenállóbbak ebben a tekintetben, 20 Gy felett károsodnak.

2.3. Krioprezerváció

A fertilitás megőrzésére alkalmas módszer a spermiumok krioprezervációja, mely a spermiumok -196 °C-on való tárolását jelenti. Ezen a hőmérsékleten a biokémiai folyamatok leállnak. A spermium fagyasztást minden ejakulációs funkciót illetve spermatogenezist negatívan befolyásoló kezelés megkezdése előtt (kemoterápia, irradiáció, műtét) fel kell ajánlani a betegnek. A krioprezerváció és felolvasztás folyamata az ondóminta paramétereinek romlását okozza.

Tanulmányok igazolták, hogy a fagyasztásnak nincs DNS fragmentációt növelő hatása és epigenetikai változásokat sem indukál. Továbbá a fagyasztás nem befolyásolja sem

a számbeli kromoszóma rendellenességének frekvenciáját, sem a nemi arányt a spermiumokban.

A gyógyult tumoros betegek fagyasztva tárolt mintáinak a felhasználásával végzett ART sikerességi aránya irodalmi adatok szerint 33-56%-os.

2.4. Spermatogenezis és spermium biomarkerek

A spermatogoniumok spermiummá való alakulása a spermatogenezis, mely folyamat három fő fázisra tagolható: spermatocitogenezisre, meiosisra és spermiogenezisre. A spermatogoniumok osztódása során vagy A típusú, vagy B típusú spermatogonium képződik. Ez utóbbi az elsőrendű spermatocyta előalakja. A spermatogoniumok diploid sejtek, a szomatikus sejtekhez hasonlóan. Az ebből létrejövő elsőrendű rendű spermatocytában zajlik le a meiosis profázisa. Az első meiotikus osztódás eredményeként jön létre a másodrendű spermatocyta. Ezután lezajlik a második meiotikus osztódás, így jön létre a haploid genotípusú spermatida. A meiosis folyamatának különböző zavarai különböző számbeli kromoszóma rendellenességet (aneuploidiát vagy diploidiát) eredményezhetnek, melyek detektálására tanulmányunkban a multikolor fluorescens in situ hibridizációs technikát alkalmaztuk.

A spermiogenezis során alakulnak át a spermatidák érett hímivarsejtté. A spermiogenezis legfontosabb eseményei a következőkben foglalhatók össze:

-mag kondenzáció, mely során a spermium kromatin állománya 6-10x kompaktabb lesz, mint egy átlagos szomatikus sejté. Ezt a hiperkondenzált állapotot a spermium úgy éri el, hogy a hiszton fehérjét először átmeneti fehérjék helyettesítik, majd ezek protaminra cserélődnek. Infertilis betegeknél a protamin expresszió szignifikánsan alacsonyabb, mint a bizonyítottan fertilis férfiak esetén. Ismert az is, hogy a kromatin kondenzáció zavara jelen lehet morfológiailag ép spermiumok esetén is. Korábbi vizsgálatok kimutatták továbbá a spermium hiszton csere defektusa esetén a megzavart spermium érést. Az anilin kék festékkel a hiszton fehérjék festődnek, így reziduális hiszton detektálásra ezt a módszert használtuk.

- az acrosoma kialakulása, amiben a petesejt penetrációjához esszenciális enzimek (például hialuronidáz) találhatóak.
- flagellum formáció az acrosomával ellentétes oldalon, spermium nyaki, farki részének kialakulása.
- citoplazma redukciója, mely során a szükségtelen citoplazma állománytól válik meg a sejt. A plazmamembrán remodellingje során megjelennek a felszínen a hialuronsav kötő receptorok, melyek a petesejt zona pellucidájához való kötődésben, így a fertilizációs képességben játszanak kulcsszerepet. Korábbi vizsgálatok bizonyították, hogy csak az érett, citoplazma reteneciótól mentes, aneuploidiát nem hordozó spermium képes kötődni a hialuronsavhoz. Ezt a fertilizációs potenciált jelző vizsgálatot használtuk funkcionális tesztként tanulmányunkban.

Az andrológia területén az objektív spermium biomarkerek kifejlesztése óriási jelentőségű volt, hiszen megíjósolhatóvá vált a spermium fertilizációs képessége, mely a spermium koncentrációtól és motilitástól függetlennek bizonyult. Klinikai tanulmányok igazolták, hogy a kreatin kináz (CK) festéssel kimutatott citoplazma retenció az érési folyamatban megrekedt spermiumot detektálja. Az inszeminációk során a terhességi rátával a CK festődés eredményei korreláltak, nem pedig a spermium koncentráció vagy motilitás. A normál spermium koncentrációjú és motilitású mintákkal végzett sikertelen IVF ciklusok hátterében is a magasabb CK festődési arány igazolódott. A ismeretlen eredetű (unexplained) férfi infertilitás hátterében a spermium éretlensége állhat, mely azonban nem feltétlenül okoz eltérés a spermigramban. A spermium minőségi jellemzésére szolgáló vizsgálatok (fluorescens in situ hibridizáció, anilin kék festés, DNS fragmentációs vizsgálatok, hialuronsav kötődés) eredményei 80%-ban megfelelnek egymásnak, de a spermium koncentrációval illetve motilitással való kapcsolatuk jelentősen gyengébb. Az ugyanazon spermiumon történő különböző biomarker vizsgálatok eredményének egyezése arra mutat, hogy amennyiben a spermium érése zavart szenved, ez strukturális és funkcionális zavart okoz, mind a citoplazmatikus mind a nukleáris

kompartmentben. Erre egy lehetséges magyarázat, a spermiumban kifejeződő HspA2 (heat shock protein- hősokk fehérje) chaperon fehérje többes funkciója. Ez a fehérje a meiosis során, a szinaptonemális komplex kialakításában játszik kulcsszerepet. A spermatogenezisben pedig a DNS repair mechanizmusokat irányító folyamatokban vesz részt.

2.5. Célkitűzések

Az értekezésem célja a heretumoros, fertilis korú férfiak spermatogenezisének jellemzése a Debreceni Egyetem beteganyagán, a heredaganatos férfiak fertilitási prognózisának felmérése kérdőíves követéssel, illetve a romló spermatogenezissel kapcsolatban álló genetikai, epigenetikai, funkcionális eltérések felderítése klinikai és kísérletes kutatás segítségével, majd az eredmények interpretálása a mindennapi gyakorlat számára. E célok megvalósításához az alábbi vizsgálatokat végeztem:

1. A heretumor indikációjával fagyasztva tárolt ondóminták spermigramjának elemzése, eredmények összevetése más, reprodukív korban előforduló tumor esetén tapasztaltakkal.
2. A heretumor miatt krioprezervációt igénybe vevők kérdőíves megkeresése annak felmérése céljából, hogy hogyan változott a családtervezési szándék, mekkora a fagyasztva tárolt minták felhasználási aránya, mi lett az asszisztált reprodukciós eljárás kimenetele, valamint milyen a spontán létrejött terhesség aránya és kimenetele.
3. Normozoospermiás, infertilis és adjuváns kezelés előtt álló heretumoros férfiak ejakulátumának genetikai vizsgálata, a számbeli kromoszóma rendellenességek előfordulási gyakoriságának meghatározása multicolor FISH vizsgálattal.
4. Normozoospermiás, infertilis és adjuváns kezelés előtt álló heretumoros férfiak ejakulátumának epigenetikai vizsgálata, a mag kondenzáció zavara detektálása reziduális hiszton fehérje anilin kék festésével.
5. Normozoospermiás, infertilis és adjuváns kezelés előtt álló heretumoros férfiak ejakulátumának funkcionális vizsgálata, a fertilizációs potenciált jellemző hialuronsav kötődési vizsgálattal.
6. Korrelációs vizsgálat az egyes jellemzők közötti összefüggések felderítésére a tumoros és nem tumoros csoportban.
7. A vizsgálatokban szereplő csoportoktól származó minták vizsgált jellemzőinek összevetése, a spermatogenezisre és fertilitási potenciálra vonatkozó hasonlóságok és különbségek elemzése, klinikai következtetések levonása céljából.

3. Betegek és módszerek

3.1. Spermigram eltérések elemzése heretumoros betegeknél

A Debreceni Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Andrológiai és Spermium Krioprezervációs Laboratóriumában 10 év alatt spermium fagyasztás céljából megjelent heretumoros (TC), Hodgkin- kóros (HD) és non-Hodgkin-lymphomás (NHD) betegek (n=119) fagyasztás előtti ondómintáit elemeztük. A betegek kemo-, illetve sugárkezelést az ondóvizsgálat előtt nem kaptak, a heretumoros férfiak semicastratio után voltak. Az ondómintákat 3-5 nap karencia után a WHO 2010. évi irányelvének megfelelően elemeztük.

3.2. Heretumoros betegek fertilitásának utánkövetése

A Debreceni Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Andrológiai és Krioprezervációs Laboratóriumában 11 éves időintervallumban heretumor miatt fagyasztva tárolást kérő 86 betegünket kerestük meg kérdőívünkkel. Adatokat gyűjtöttünk a betegeink családi anamnéziséről, a heretumor kezeléséről, heretumor szövettani típusáról, gyermekvállalási tervekről, amennyiben terhesség jött létre, úgy azzal kapcsolatos adatokról, fagyasztva tárolt minta felhasználásáról.

3.3. Spermium funkcionális, genetikai és epigenetikai vizsgálata heretumor esetén

3.3.1 A vizsgálatban részt vevők

Heretumoros betegek (TC)

A Debreceni Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikájának, Andrológiai és Krioprezervációs Laboratóriumában spermium fagyasztva tárolás céljából jelentkező 28 heretumoros beteg ondómintáit vizsgáltuk. A betegek semicastratio után voltak, de kemoterápia illetve sugárkezelés megkezdés előtt. A TC betegeket a spermium koncentráció alapján alcsoportokra osztottuk: oligozoospermiás (TCO, n=8)

(spermium koncentráció $<15 \times 10^6/\text{ml}$) és normozoospermiás (TCN, $n=20$) (spermium koncentráció $> 15 \times 10^6/\text{ml}$) csoportra. Szövettani típus alapján seminoma ($n=16$) és non-seminoma ($n=12$) csoportot képeztünk.

Infertilis, oligozoospermiás betegek (IO)

A Debreceni Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikájának, Andrológiai és Krioprezervációs Laboratóriumában illetve az Urológiai Klinika, Andrológiai szakrendelésén infertilitás miatt jelentkező 20 oligozoospermiás betegek mintáit vizsgáltuk. A csoport tagjait korban illesztettük a heretumoros betegekhez.

Normozoospermiás férfiak (NZ)

A Debreceni Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikájának, Andrológiai és Krioprezervációs Laboratóriumában jelentkező 20 egészséges sperma donor ondómintáit vizsgáltuk. A normozoospermiás betegek csoportját korban illesztettük a heretumoros betegekhez.

3.3.2 Vizsgálati Módszerek

Spermium analízis

Az ejakulátum 2-4 nap karencia után került leadásra. Az elemzést manuálisan, a World Health Organisation hatályos irányelvei alapján végeztük.

Fluorescens in situ hibridizáció (FISH) vizsgálat

A spermiumok FISH vizsgálatához három FISH próbát alkalmaztunk. Az aneuploidia meghatározásához az irodalomban elfogadott ajánlás szerint három kromoszóma számbeli eltérését vizsgáljuk, a 17-es (D17Z1, SpectrumAqua), az X- (DXZ1, SpectrumOrange) és az Y-kromoszóma (DYZ1, SpectrumGreen) (Abbott/Vysis) centromerájához kötődő próbák segítségével. A FISH-vizsgálat a próbákat gyártó cég által javasolt protokoll szerint történt. A spermiumok kromoszóma rendellenességének

meghatározásához kenetenként 5000 spermiumot elemeztünk. Az átlagos hibridizációs hatékonyság >98%-os volt. A vizsgálat értékeléséhez Zeiss Axioplan2 (Carl Zeiss, Jena, Germany) fluorescens mikroszkópot és ISIS szoftvert (Metasystems, Althussheim, Germany) használtunk.

A 17-es autoszómát választottuk az autoszómális rendellenességek detektálásához, mert ezen kromoszóma aneuploidia frekvenciája megegyezik az összes autoszóma átlagos aneuploidia frekvenciájával (0,12%).

Anilin kék festés (AB festés)

Az ejakulátumból kenet készítettünk. Ecetsavval 3,5-es pH értékre beállított, 5%-os anilin kék festékben (Sigma Co., St. Louis, MO, USA) festettük a tárgylemezeket. Az érett spermiumban a hiszton fehérjék kicserélődnek protaminra, ezek a spermiumok világosan festődnek. A részleges cserén átesett sejtek közepes festődést mutatnak, míg a nagymértékben zavart szenvedett spermiumok sötétre festődnek. A halvány festődés érett spermiumot, a közepes festődés éréseben károsodott spermiumot, a sötét festődés pedig éretlen spermiumot jelez. A közepes és sötét festődést mutató spermiumokat kórosnak értékeltük. Az eredmény a festődő és nem festődő sejtek százalékos értékében adtuk meg. Azt az ejakulátumot tartjuk normálnak, melyben a festődő sejtek aránya < 20%-nál.

Spermium hialuronsav kötődési vizsgálat (HBA teszt)

Az ejakulátum szobahőmérsékleten történő elfolyosódása után 3 órán belül végeztük a HBA tesztet (MidAtlantic Diagnostics, Marlton, NJ, USA). Az értékelés fénymikroszkóppal történik, 100x nagyítás alatt. A hialuronsavhoz (HS) kötött motilis és nem kötött motilis spermiumokat számoltuk meg, majd ezen adatok felhasználásával kötődési százalékot kalkuláltunk.

3.4. Statisztikai módszerek

Az adatok normalitásának vizsgálata Kolmogorov-Smirnov teszttel történt. A legtöbb adat nem normál eloszlást mutatott, így az elemzéskor a Mann-Whitney U tesztet alkalmaztuk. A korrelációk vizsgálatakor Spearman rho-t számítottunk. Statisztikailag szignifikánsnak a 0,05-nél kisebb p értékeket tartottuk. Minden statisztikai számítást SPSS Statisztikai szoftver 22,0-es verziójával végeztünk (IBM Corps., Armonk, NY, USA).

3.5. Etikai Bizottsági Engedély

A tanulmányba való részvétel előtt részletes írásbeli és szóbeli tájékoztatás történt. Minden résztvevő írásbeli tájékoztatót kapott, beleegyező nyilatkozatot írt alá. Intézeti etikai bizottsággal rendelkezünk a vizsgálatunk végzéséhez (referencia szám: DEOEC RKEB/IKEB: 2736/2008 and 2976/2012-EHR).

4. Eredmények

4.1. Spermioqram eltérések elemzése heretumoros betegeknél-eredmények

A vizsgált 10 éves periódusban 119 betegnek történt onkológiai javallatú spermium fagyasztás és tárolás. A betegek 57%-a (n=68) heretumoros (TC) volt, átlagéletkoruk a betegség diagnosztizálásakor 22,7 év (16-42). Hodgkin-kór (HD) miatt történt a fagyasztások 31%-a (n=37), a betegek átlagéletkora 24,6 év (17-34). Non-Hodgkin-lymphomás (NHD) volt betegeink 12%-a (n=14), átlagéletkor 28,6 év (17-39). A TC betegek közül 9 (13,2%), a HD csoportban 4 (10,8%), a NHD csoportban 1 beteg (7,2%) volt azoospermiás. Az oligozoospermiás betegek aránya a TC csoportban 55,9% (n=38), a HD csoportban 59,5% (n=22) és a NHD csoportban 71,4% (n=10) volt. Az teljes spermium szám (spermium koncentráció x ondótérfogat) alapján a minták 48,7%-a (n=70) került a referenciahatár (39×10^6 spermium/ejakulátum) alá. A spermium koncentráció (az azoospermiás betegek kivétele után) a TC csoportban $24,9 \times 10^6$ /ml, a HD csoportban $30,9 \times 10^6$ /ml, a NHD csoportban pedig $37,4 \times 10^6$ /ml volt. Spermium koncentráció szempontjából szignifikáns különbséget találtunk a heretumoros és NHD betegek között, ugyanakkor nem volt szignifikáns a különbség a Hodgkin-kór és non-Hodgkin-kóros betegek valamint a Hodgkin-kóros és heretumoros betegek között. A lymphomás betegekből egy csoportot képezve a spermiumkoncentráció tekintetében szignifikáns különbséget kaptunk a heretumoros csoporthoz képest.

4.2. Heretumoros betegek fertilitásának utánkövetése - eredmények

A kérdőívünkre választ adó 59 páciensünk átlagos életkora 27 év (16-41 év) volt a fagyasztás igénybevételekor, 32 év (21-47 év) a tanulmányunk végzésekor. A betegek 71%-a (n=42) 30 év alatti volt a kérdőív kitöltésekor. A kérdésre, hogy voltak-e, illetve vannak-e családtervezési tervei a heretumor kezelése óta, 53% (n=31) válaszolt igennel. A reprodukív tervek fennállásának idejéről nincs adatunk. Természetes úton

13 beteg párjánál jött létre terhesség, asszisztált reprodukciós technikát fagyasztva tárolt spermium felhasználásával 7 pár vett igénybe. A természetes úton fogant összesen 18 terhesség átlagosan 4,4 évvel (1-10 év, medián: 3,5 év) a kezelés megkezdése után jött létre. A 18 terhességből 4 végződött spontán vetéléssel a 12. terhességi hét előtt. Azon betegek fagyasztáskori spermium paramétereit elemeztük, akiknél spontán terhesség jött létre. A betegek közül 7-nek $20 \times 10^6/\text{ml}$, 3-nak $15 \times 10^6/\text{ml}$ alatti volt a fagyasztáskori spermium koncentrációja. Egy esetben pedig súlyos oligozoospermia volt jelen, vagyis a spermium koncentráció kevesebb volt, mint $1 \times 10^6/\text{ml}$. Két terhesség is a heretumor diagnózisa után 1 évvel jött létre, a kemoterápia illetve a sugárkezelés után még egy év sem telt el.

A fagyasztott ondómintát 7 beteg (11,9%) használta fel in vitro fertilizációs technikához. Az átlagos tárolási idő 4,1 év (1-9év, medián: 3 év) volt. A fagyasztott minta felhasználásával 6 terhesség jött létre, 4 élveszüléssel (2 leány, 2 fiú) és 2 pedig spontán vetéléssel végződött.

4.3. Spermium funkcionális, genetikai és epigenetikai vizsgálata heretumor esetén –eredmények

Számbeli kromoszóma rendellenességek vizsgálata FISH módszerrel

Az X/Y hányados minden csoportban 1:1-hez közeli volt. A magasabb 17-es kromoszóma diszómia frekvenciát találtunk az IO csoportban a TC és NZ csoporthoz képest, ez a becsült számbeli kromoszóma rendellenességekben is megmutatkozott. Becsült számbeli kromoszóma rendellenességek tekintetében szignifikáns különbséget találtunk az IO és NZ csoport ($p < 0.001$), az IO és TCO csoport TCO ($p = 0.008$) valamint az IO és TCN csoport ($p < 0.001$) eredményei között. Nem különbözött a NZ és TC, TCO és TCN, NZ és TCN, NZ és TCO csoportokban. A NZ csoport eredménye nem különböztek az oligozoospermias heretumoros betegektől sem nemi kromoszóma diszómiában, sem 17-es kromoszóma diszómiában és becsült kromoszóma rendellenességek előfordulási gyakoriságában sem.

Anilin kék festés eredményei

Az anilin kék (AB) festődő sejtek aránya 16,9% volt a normozoospermiás, 45,7% az oligozoospermiás, 23% a heretumoros, 19,9% a TCN valamint 30,7% a TCO csoportban. A különbséget szignifikánsnak találtuk az IO és NZ ($p<0,001$), IO és TC ($p<0,001$), IO és TCO ($p<0,001$), TCO és TCN ($p=0,028$), NZ és TCO ($p=0,005$) és az IO és TCO ($p=0,011$) csoportok között. Nem volt különbség a NZ és TC valamint az NZ és TCN csoport eredményei között.

Spermium hialuronsav kötődési vizsgálat eredményei

A normozoospermiás csoportban átlagosan a mozgó spermiumok 81,1%-a, az oligozoospermiás csoportban a 41,9%-a, és heretumoros csoportban az 56,9%-a kötődött a hialuronsavhoz. A TCN csoportban ez a 60,9%, a TCO csoportban pedig 46,8% volt. A HBA teszttel meghatározott kötődési százalék a normozoospermiás csoportban magasabbnak bizonyult mind az infertilis, oligozoospermiás csoporténál ($p<0,001$), mind a heretumoros csoporténál ($p<0,001$). Az IO csoport azonban alacsonyabb kötődési százalékot mutatott, mint a heretumoros csoport ($p=0,019$). A különbség az IO és TCO ($p=0,007$), NZ és TCN ($p<0,001$) és az NZ és TCO csoport ($p=0,001$) között volt szignifikáns. Nem különböztek a TCO és TCN csoport valamint a IO és TCN csoport eredményei.

Szövettan alapján történő csoportosítás eredményei

A heretumoros csoportot szövettani eredmény alapján két csoportra osztottuk, seminoma ($n=16$) és non-seminoma ($n=12$) csoportra. A két csoport között nem találtunk különbséget életkorban (30,4 év versus 27,1 év; $p=0,16$), spermium koncentrációban ($31,4 \times 10^6/\text{ml}$ versus $22,7 \times 10^6/\text{ml}$; $p=0,226$), X/Y arányban (1,05 versus 1,1; $p=0,982$), becsült számbeli kromoszóma rendellenességben (3,86 versus

3,93; $p=0,239$), HS kötődési százalékban (57 versus 57%; $p=0,45$) és AB festődő sejtek arányában (21 versus 26%; $p=0,133$).

Korrelációs analízis eredményei

A vizsgált paraméterek közötti korreláció elemzéséhez az IO és NZ csoportból kontroll csoportot alkottunk, így a spermium koncentráció széles spektrumát kapjuk ($1-160 \times 10^6/\text{ml}$). A spermium koncentráció, becsült kromoszóma rendellenesség, hialuronsav kötődési százalék és anilin kék festődő sejt arány közötti korrelációs analízist a kontroll csoporton és a heretumoros csoporton is elvégeztük.

A kontroll csoportban statisztikailag szignifikáns ($p<0,001$) korrelációt találtunk a spermium koncentráció és HS kötődés (Spearman $\rho = 0,842$), a becsült számbeli kromoszóma rendellenességek (Spearman $\rho = -0,642$) és AB festődő sejtek aránya között (Spearman $\rho = -0,876$); valamint a becsült számbeli kromoszóma rendellenesség és a HS kötődés (Spearman $\rho = -0,678$) és a AB festődő sejtek aránya között (Spearman $\rho = 0,559$); továbbá a HS kötődés és AB festődő sejtek aránya között (Spearman $\rho = -0,811$).

A heretumoros csoportban ezzel szemben csak a spermium koncentráció és a becsült számbeli kromoszóma rendellenességek között találtunk szignifikáns összefüggést (Spearman $\rho = -0,642$). A többi általunk vizsgált paraméter között nem tudtunk szignifikáns korrelációt kimutatni.

5.1. Megbeszélés

A heretumoros betegek spermigramjának elemzése alapján elmondható, hogy a spermatogenezis már a tumorelles kezelés megkezdése előtt zavart szenved, melyet az ejakulátum mennyiségi mutatóinak csökkenése jelez. A vizsgált anyagunkban az onkológiai javallatú spermium fagyasztásra jelentkező betegek 11,8%-a azoospermias volt a betegség diagnózisakor. Bár a kezelés utáni fertilitás nem megjósolható a kezelés előtti spermium paramétereiből, de nem jelent jó prognózist a már a kezelés megkezdése előtti jelentkező azoospermia.

Az onkológiai javallatú (heretumor, Hodgkin-kór, non-Hodgkin-kór miatt történt) spermium fagyasztáskor talált spermigram elemzése során a legrosszabb adatokat a heretumoros betegek csoportjában kaptuk. Az azoospermias betegek aránya ebben a csoportban a legmagasabb, és az azoospermias betegek kihagyásával számolt spermium koncentráció átlagát is itt találtuk a legalacsonyabbnak.

A kérdőíves vizsgálatunk eredményei alapján elmondhatjuk, hogy a fagyasztva tárolt minták felhasználása 11,9%-os volt, mely az irodalomba leírt 4,7- 12,5%-os adatok között magasnak tekinthető. Gyermekvállalási szándékról 31 gyógyult heredaganatos beteg számolt be a kérdőívet visszaküldők közül (31/59, 53%). Természetes úton 13 férfi partnernek fogant 18 terhessége. A terhességig átlagosan eltelt idő 4,4 év volt. ART-ra 7 beteg (7/31; 22,5%) fagyasztva tárolt mintája került felhasználásra.

Eredményeink alapján fontosnak tartottuk a spermiumok nem csak mennyiségi, hanem minőségi jellemzését is, kísérletes munkánk ezt hivatott vizsgálni. Tudomásunk szerint eddig ilyen nagy esetszámú heretumoros csoporton nem történt a kezelési előtti ejakulátum ilyen széles körű vizsgálata, mely nem csak a konvencionális spermigram eredményét vizsgálta, hanem kiegészítette genetikai, epigenetikai és funkcionális vizsgálattal is. Továbbá a tumor hatásának vizsgálata céljából az így kapott eredményeket nem csak egészséges, normozoospermias kontroll csoporthoz, hanem

infertilis, oligozoospermiás betegcsoporthoz is hasonlítottuk. Valamint a szövettani típus szerinti elemzést is elvégeztük

Az eredményeink azt mutatják, hogy nincs statisztikailag szignifikáns különbség a heretumoros és normozoospermiás beteg spermiumában X/Y arány, nemi kromoszóma diszómia, 17-es kromoszóma diszómia, diploidia és becsült számbeli kromoszóma rendellenesség szempontjából, bár a spermium koncentráció és HS kötődési százalék eredményei szignifikánsan rosszabbak a heretumoros csoportban.

Az aneuploidia frekvencia és anilin kék festés eredménye akkor sem különbözött, ha az oligozoospermiás heretumoros csoport eredményeit vetettük össze a normozoospermiással. A TCN és TCO csoport között a spermium koncentrációban és anilin kék festődés eredményében találtunk eltérést. Minden általunk vizsgált minőségi jellemző rosszabbnak bizonyult az IO csoportban, mint a heretumoros csoportban. Ha a TCO alcsoportot hasonlítom az IO csoporthoz ezek a különbségek akkor sem tűnnek el.

Az IO és NZ csoportokból kialakított kontroll csoport vizsgálati eredményei között szignifikáns korrelációkat találtunk. A spermium koncentráció korrelált az aneuploidia aránnyal, a HS kötődési százalékkal, az anilin kék festés eredményével; a HS kötődési százalék kapcsolatot mutatott az anilin kék festéssel valamint a becsült számbeli kromoszóma rendellenességekkel. Szignifikáns, de gyengébb kapcsolatot tudtunk kimutatni az anilin kék festődés és aneuploidia között, mely eredményt alátámaszt az a megfigyelés, mi szerint a kromatin kondenzációja befolyásolja a sejthez a FISH vizsgálat során használt próba hibridizációját, így hímivar-sejtek egy populációja nem vizsgálható.

A korrelációs vizsgálatunk eredménye megfelel az eddig publikált eredményeknek, miszerint nem tumoros betegek spermium koncentrációja, aneuploidia frekvenciája és fertilizációs potenciálja (HS kötődési képesség) egymással összefüggő jelelemzői az ejakulátumnak. Ezzel ellentétben a heretumoros csoport eredményei között egy szignifikáns korrelációt tudtunk kimutatni (a spermium koncentráció és becsült

számbeli kromoszóma rendellenesség között). Ez azt jelenti, hogy a spermium koncentráció nem jelzi előre a spermiumok minőségi mutatóit ebben a betegcsoportban. Ezen megállapítás további bizonyítást igényel.

Az általunk végzett vizsgálatban a HS kötődési képesség alacsonyabb volt a TC csoportban a normozoospermiához képest. Továbbá a HS kötődés eredményei nem korreláltak a spermium koncentrációval a tumoros csoportban. Ezek alapján azt feltételezzük, hogy a fertilizációs potenciál a heretumoros betegeknél nem becsülhető meg a spermium koncentrációból. Továbbá az alacsony spermium koncentráció illetve HS kötődési százalék nem feltétlenül jelez a tumoros csoportban emelkedett aneuploidia frekvenciát vagy zavart mag kondenzációt.

Azt találtuk, hogy az anilin kékkel festődő spermiumok aránya nem különbözött az NC és TC csoportban, de szignifikánsan magasabb volt az IO csoportban.

5.2. Új megállapítások

1. A heretumor indikációjával fagyasztva tárolt ondóminták spermiogramjának elemzése során azt találtuk, hogy a tumorelles kezelés megkezdése előtt a betegek nyolcada (13,2%) azoospermiás, több mint fele (55,9%) oligozoospermiás, és csak közel harmada (30,9%) normozoospermiás. Összeségében a betegek kétharmadának (64,7%) alacsony az össz spermium száma. A heretumor miatt tárolt minták (n=68) jellemzőit összevetve a lymphoma miatt tárolt mintákéval (n=51), a heretumoros csoportban a spermium koncentráció szignifikánsan alacsonyabbnak adódott, mint a lymphomás csoportban ($24,9 \times 10^6/\text{ml}$ vs. $32,8 \times 10^6/\text{ml}$).

2. A heretumor miatt krioprezervációt igénybe vevők kérdőíves megkeresése során megállapítottuk, hogy az 59 válaszadó többségének (53%) gyermekvállalási igénye jelentkezett a heretumor kezelése után. Ezen párok közel felénél (42%) fogant spontán terhesség, közülük hárman (23%) több gyermeket is nemzettek. A terhességig eltelt átlagos idő 4,4 év volt. Fagyasztva tárolt mintát 7 férfi használta fel asszisztált reprodukciós eljárás végzéséhez, melyek eredménye 6 terhesség és 4 elveszülés volt.

A felhasználásig átlagosan eltelt idő 4,1 évnek adódott. A fagyasztva tárolt minták felhasználása 11,86%-os, mely irodalmi adatok között magasnak számít, ugyanakkor heretumor kezelését követően a fertilitási prognózis, bár széles egyéni variációkkal, jónak mondható.

3. Heretumoros betegek kemoterápia, illetve sugárkezelés előtti spermiumának becsült számbeli kromoszóma rendellenesség frekvenciája nem különbözik a normozoospermiás férfiakétól, az infertilis, oligozoospermiás csoport eredményeitől pedig szignifikánsan jobb. A különbség megmarad akkor is, ha csak az alacsony spermium koncentrációjú heretumoros mintákat vetjük össze az infertilis, oligozoospermiás csoporttal.

4. Heretumoros betegek anilin kék festéssel detektált mag kondenzációja nem különbözik a normozoospermiás csoportétól, szignifikánsan jobb, mint az infertilis, oligozoospermiás csoporté. A heretumoros csoporton belül azonban az az oligozoospermiás és normozoospermiás minták között különbséget mutattunk ki. Az oligozoospermiás heretumoros és infertilis, oligozoospermiás minták eredményei között nem volt különbség mag kondenzációs zavar tekintetében.

5. A heretumoros csoportban hialuronsav kötődési vizsgálattal meghatározott fertilizációs képesség alacsonyabb volt a normozoospermiás csoportéhoz képest, de jobb volt az infertilis, oligozoospermiás csoporténál. Az oligozoospermiás heretumoros csoport eredményei is jobbnak bizonyultak az infertilis, oligozoospermiás csoportétól.

6. Az egyes paraméterek közötti összefüggések vizsgálatára végzett korrelációs vizsgálattal azt találtuk, hogy a nem tumoros csoportban (kontroll csoport, mely az normozoospermiás és infertilis, oligozoospermiás csoportok összevonásával jött létre) szignifikáns kapcsolat van a spermium koncentráció, a becsült kromoszóma aneuploidia frekvencia, az anilin kék festődés eredményei között és a hialuronsav kötődés között. A legerősebb kapcsolatot a spermium koncentráció és kromatin kondenzáció, a spermium koncentráció és fertilizációs potenciál, valamint a

fertilizációs potenciál és kromatin kondenzáció között igazoltunk. Heretumoros csoportban a vizsgált paraméterek között nem találtunk ilyen erős összefüggést. A spermatogenezis defektusa oligozoospermiával társult heretumorban és infertilitásban különböző, heretumor esetén elsősorban a a spermium éréshez köthető fertilizációs potenciál csökkenése érvényesül, míg férfi infertilitásban ezen túl emelkedett aneuploidia frekvenciával és kromatin dekonzenzációval is jár.

7. Eredményeink alapján a heretumoros betegeknél jelen lévő oligozoospermia nem jár az infertilis betegeknél megfigyelt romló minőségi változásokkal, a heretumoros beteg esetén nem jelent fokozott számbeli kromoszóma rendellenességet vagy mag kondenzációs zavart. A hialuronsav kötődéssel jellemezhető fertilizációs potenciál a normozoospermiás mintákhoz képest heretumor esetén csökkent, de az infertilis, oligozoospermiásénál jobbnak mutatkozott. Az onkológiai célból fagyasztva tárolásra kerülő ondóminta későbbi felhasználása asszisztált reprodukciós célokra nem hordoz emelkedett genetikai kockázatot, sem magasabb vetélési kockázatot jelentő emelkedett arányú mag kondenzációs defektust.

Témában elhangzott előadások jegyzéke

1. **Molnár Zs.**, Bazsáné Kassai Zs., Balázs M., Jakab A. Aneuploid spermiumok előfordulása, kimutatása és reprodukciós jelentősége” Magyar Urológiai Társaság Andrológiai Szekció 28. Tudományos Ülése, 2004. szeptember 23-25, Szeged
2. **Molnár Zs.**, Rákosy Zs., Treszl A., Balász M., Bazsáné Kassai Zs., Kovács T., Jakab A. Spermiumon végzett FISH vizsgálattal szerzett tapasztalataink” Magyar Asszisztált Reprodukciós Társaság V. Nemzeti Kongresszusa, 2005. április 22-23, Visegrád
3. **Molnár Zs.**, Bazsáné Kassai Zs., Jakab A. Ivarsejt adományozás a hazai gyakorlatban” Fiatal Nőorvos Társaság Kongresszusa, 2005. október 28-29, Szeged
4. Jakab A, Kovács T, Békési Gy, **Molnár Zs**, Sevil C, Huszár G. A diploid spermium. A Magyar Urológusok Társasága Andrológiai Szekció 30. Tudományos Ülése, 2006. március 30 – április 1, Debrecen.
5. **Molnár Zs**, Bazsáné Kassai Zs, Jakab A, Szücs M, Benyó M, Bógyi Gy. Kemoterápián átesett férfiak fertilitási problémái. A Magyar Andrológiai Tudományos. Társaság I. Kongresszusa, 2007, Siófok.
6. **Molnár Zs.**, Jakab A., Reproductív Andrológia: Környezeti ártalmak és a spermium” A XVI. Primer Prevenciós Fórum, 2008. május 21., Budapest
7. **Molnár Zs**, Bazsáné Kassai Zs, Szücs M, Benyó M, Jakab A. A fertilitási prognózist befolyásoló kezdeti tényezők vizsgálata onkológiai javallatú spermium fagyasztás esetén. A Magyar Andrológiai Tudományos. Társaság II. Kongresszusa, 2008, Sopron.
8. **Molnár Zs**, Jakab A, Bazsáné Kassai Zs, Benyó M, Tóth Z. Evaluation of semen quality in men with malignant diseases before therapy. 2008. március 6-9. Lisboa, Portugal, EBCOG 2008 – 20th European Congress of Obstetrics and Gynecology
9. **Molnár Zs**, Bazsáné Kassai Zs, Lévai I, Benyó M, Jakab A. A heretumoros betegek fertilitási prognózisa – retrospektív adatfeldolgozás. A Magyar Andrológiai Tudományos. Társaság III. Kongresszusa, 2009, Galyatető.
10. **Molnár Zs**. Kromoszóma aneuploidia meghatározása humán spermiumban kemoterápia előtt és után „PhD szimpózium, DE Doktori Iskola, Klinikai Orvostudományok, 2009, május, Debrecen
11. Mokánszki A, Balogh E, Újfalusi A, Sümegi A, Varga A, Jakab A, **Molnár Zs**, Sápó T, Oláh É. A spermium FISH jelentősége infertilitásban. Magyar Humángenetikai Társaság VIII. Kongresszusa. 2010. szeptember 3, Debrecen.
12. Mokánszki A, **Molnár Zs**, Bazsáné Kassai Zs, Balogh E, Újfalusi A, Sümegi A, Jakab A, Oláh É: A heredaganatos férfiak spermaképének, fertilizációs

- képességének és spermium kromoszóma anomáliáinak változása tumorelles kezelés előtt.. A Magyar Andrológiai Tudományos Társaság IV. Kongresszusa. 2010. November 4-6, Bikal.
13. Jakab A, **Molnár Zs**, Benyó M, Lévai Í, Kassai Z. Semen quality at cryobanking before oncologic treatment. 2010. jún. 27-30. Rome, Italy. ESHRE 2010 – 19th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology
 14. **Molnár Zs**, Bazsáné Kassai Zs, Mokánszki A, Benyó M, Jakab A. Fertilitási prognózis és spermium vizsgálatok heredaganatos férfiaknál. “Aktualitások a reprodukív orvostudományban” Tudományos Ülés, 2011.09.13, Debrecen.
 15. **Molnár Zs.**, Bazsáné Kassai Zs., Jakab A., Spermium funkcionális és genetikai vizsgálata csökkent fertilizáció esetén-munkacsoportunk, eredményeink bemutatása. Az MTA Debreceni Területi Bizottság I. sz. Orvosi és Biológiai Szakbizottság „Klinikai genetikai és ritka betegségek” munkacsoportjának tudományos ülése DAB Székház, Debrecen, 2011.11.22
 16. **Molnár Zs**, Mokánszki A, Benyó M, Kassai Z, Oláh E, Jakab A. Sperm fertilization potential and chromosomal anomalies in testicular cancer before chemotherapy. 2011. július 3-6, Stockholm, Sweden - ESHRE 2011 – 20th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology
 17. **Molnár Zs**, Bazsáné Kassai Zs, Mokánszki A, Benyó M, Jakab A. Fertilitási prognózis és spermium vizsgálatok heredaganatos férfiaknál – utánkövetésünk eredményei. Andrológus –Embriológus találkozó, 2012.03.09, Budapest
 18. Mokánszki A., Ujfalusi A., Balogh E., **Molnár Zs.**,Bazsáné KZ., SáyT.,Jakab A., Varga A., Oláh É. Genetikai vizsgálatok férfi infertilitásban. Magyar Andrológiai Tudományos Társaság (MATT) VI. Kongresszusa, Eger, 2012, november 8-10
 19. Jakab A, Mokánszki A, Varga A, Benyó M, Bazsáné Kassai Z, Oláh E, **Molnár Zs**. Sperm fertilization potential and chromosomal anomalies at decreased sperm concentration: differences between testicular cancer patients and infertile men. 2013 július 7-10. London, UK - ESHRE 2013. – 20th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology



Iktatószám: DEENKÉTK/177/2014.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. Publikációs Lista

Jelölt: Molnár Zsuzsanna
Neptun kód: F68SOC
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10044155

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Molnár, Z.**, Berta, E., Benyó, M., Póka, R., Kassai, Z., Flaskó, T., Jakab, A., Bodor, M.: Fertility of testicular cancer patients after anticancer treatment: Experience of 11 years.
Pharmazie. 69, 437-441, 2014.
IF:0.962 (2012)
2. **Molnár, Z.**, Mokánszki, A., Kassai, Z., Bhattoa, H.P., Benyó, M., Oláh, É., Jakab, A.: Sperm concentration, hyaluronic acid binding capacity, aneuploidy and persistent histones in testicular cancer.
Hum. Reprod. "accepted by publisher" (2014)
IF:4.67 (2012)





További Közlemények

3. **Molnár Z.**, Benyó M., Bazsáné Kassai Z., Lévai Í., Varga A., Jakab A.: Reproaktív korban előforduló daganatok hatása a spermioenezisre: heredanatos és lymphomás betegek vizsgálata.
Orv. Hetil. 155 (33), 1306-1311, 2014.
4. Benyó, M., Hársfalvi, J., Pfliegler, G., **Molnár, Z.**, Murányi, M., Józsa, T., Flaskó, T.: Present practice of thrombosis prophylaxis of radical prostatectomy in a European country - a Hungarian multicenter study.
Urol. Int. 92 (3), 289-293, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000353918>
IF:1.065 (2012)
5. Mokánszki A., Ujfalusi A., Balogh E., **Molnár Z.**, Jakab A., Varga A., Oláh É.: A spermiumkoncentráció, a hialuronsav-kötődési képesség és a spermium aneuploidia összefüggéseinek vizsgálata.
Magyar Androl. 18 (2), 35-40, 2013.
6. Benyó, M., Flaskó, T., **Molnár, Z.**, Kerényi, A., Batta, Z., Józsa, T., Hársfalvi, J.: Follow-Up of Thrombin Generation after Prostate Cancer Surgery: Global Test for Increased Hypercoagulability.
PLoS One. 7 (12), e51299, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0051299>
IF:3.73
7. Mokánszki A., Ujfalusi A., Balogh E., **Molnár Z.**, Sáy T., Jakab A., Varga A., Oláh É.: Infertilitásban végzett citogenetikai és molekuláris genetikai vizsgálatok a kelet-magyarországi régióban.
Orv. Hetil. 153 (2), 52-61, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2013.29510>
8. Mokánszki, A., Ujfalusi, A., Balogh, E., Sümegi, A., Antal-Szalmás, P., Bazsáné Kassai, Z., **Molnár, Z.**, Varga, A., Sáy, T., Jakab, A., Oláh, É.: Meiotic segregation study of a novel t(3;6)(q21;q23) in an infertile man using fluorescence in situ hybridization (FISH).
Syst. Biol. Reprod. Med. 58 (3), 160-164, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/19396368.2012.670868>
IF:1.847



9. Mokánszki, A., **Molnár, Z.**, Ujfalusi, A., Balogh, E., Bazsáné Kassai, Z., Varga, A., Jakab, A., Oláh, É.: Correlation study between sperm concentration, hyaluronic acid-binding capacity and sperm aneuploidy in Hungarian patients.
Reprod. Biomed. Online. 25 (6), 620-626, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2012.08.003>
IF:2.675
10. Jakab A., **Molnár Z.**, Tóth Z.: A polycisztás ovarium szindróma etiopatogenezise és a polycisztás ovarium képkalkotó diagnosztikája.
Magyar Radiol. 79 (4), 170-177, 2005.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 14.949

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 5.632

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2014.07.22.

