

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Humán spermiumok megtermékenyítő képességének új vizsgálati - és kezelési lehetőségei

Dr. Szűcs Miklós

Témavezető: Dr. Juhász Béla

Társtémavezető: Dr. Jakab Attila



Debreceni Egyetem

Táplálkozás – és Élelmiszertudományi Doktori Iskola

Debrecen,

2020

Tartalomjegyzék

1.	Bevezetés.....	1
1.1.	A meddőség történelmi aspektusai	1
1.2.	A mesterséges megtermékenyítés története	3
1.3.	Spermatogenezis	4
1.4.	Kapacitáció.....	6
1.5.	A hímivarsejtek működését károsító tényezők	6
1.5.1.	Elhízás	6
1.5.2.	Varicokele.....	7
1.5.3.	Genetikai eltérések	9
1.5.4.	Obstrukció	10
1.5.5.	Hereleszállási zavarok	10
1.5.6.	„Idiopathias férfi meddőség”	11
1.6.	Az oxidatív stressz hatása a spermiumok megtermékenyítő képességére 11	
1.7.	Empirikus kezelések.....	12
1.7.1.	Micronutriensek szerepe a fertilitásban	12
1.8.	Az andrológia mint tudományág	14
1.9.	A klasszikus spermavizsgálati paraméterek és a funkcionális vizsgálatok az andrológiai kivizsgálásban	14
1.10.	A funkcionális tesztek szerepe a modern andrológiai kivizsgálásban....	15
1.10.1.	Spermium penetrációs teszt.....	15
1.10.2.	Spermium-zona pellucida kötési tesztek	15
1.10.3.	Hipo-ozmotikus duzzadás teszt.....	16
1.10.4.	DNS fragmentációs tesztek	16
1.10.5.	Hyaluronsav-kötési assay (HBA®).....	17
1.11.	Akroszóma reakció.....	20
2.	Célkitűzések	21
3.	Betegek és módszerek	22
3.1.	Testtömegindex	24
3.2.	Ondóvizsgálat.....	25

3.3.	Hyaluronsav-kötési assay (HBA®).....	26
3.4.	Hialuronánhoz kötődő érett spermiumok száma (HB-MaSC).....	26
3.5.	Statisztikai elemzés	26
4.	Eredmények.....	27
4.1.	HBA-pontszám és HB-MaSC klinikailag infertilis férfiaknál.....	27
4.2.	A spermiumparaméterek, a HBA-pontszám és a HB-MaSC változásai kiegészítő kezelés után	27
4.3.	Hialuronánhoz kötődő érett spermiumok számának (HB-MaSC) korrelációja a testtömegindexszel (BMI).....	29
5.	Megbeszélés	36
6.	Összefoglalás.....	41
7.	Summary	42
8.	Rövidítések jegyzéke	43
9.	Irodalomjegyzék.....	46
9.1.	Hivatkozott közlemények	46
9.2.	Saját közlemények	55
10.	Tárgyszavak	58
11.	Köszönetnyilvánítás	59
12.	Függelék.....	60

1. Bevezetés

1.1. A meddőség történelmi aspektusai

Az utódok létrehozása genetikai ösztön, és ennek sikertelensége, a gyermeknemzési képtelenség a legkorábbi történelmi idők óta foglalkoztatja az emberiséget. A gyermeknemzés elősegítése céljából ősi rítusokat alkalmaztak, istenekhez fohászkodtak, áldozatokat mutattak be az ősi korokban, az ókori arabok pedig nagy szeretettel viseltek amuletteket, medálokat ebből a célból. A fennmaradt írásos emlékek szerint az ókori Görögországban a hippokratészi gyógyítás szerves része volt a termékenység kezelése, ahol természetesen isteni segítség is szükséges volt a sikerhez. Éppen ezért a kezelések általában a gyógyító isten, Aesclepius szentélyében történtek [1]. A babiloni kultúrában, ahol külön istennője volt a termékenységnek, és démona a koraszülésnek és az abortusznak, nagy szerepet kapott az asztrológia és a numerológia a meddőség vonatkozásában. Az akkori tudósok nagyon pontos megfigyeléseket tettek a holdfázisok és a menstruációs ciklusok, valamint a libidóváltozások, és így a termékenység és terméketlenség összefüggéseiben.

Az ősi hindu leírások is pontos megfigyelésekről adnak tanúbizonyságot. Ismerték, hogy egy terhesség 10 holdhónapig tart, és számos szertartást végeztek a terhesség fenntartása, a fejlődési rendellenességeket és infertilitást okozó démonok távoltartása céljából.

A népi megfigyelésekből is sokszor vontak le olyan következtetéseket, melyek alapján a termékenység fenntartására és a terméketlenség kezelésére alakultak ki rítusok, szokások. Kínai, ill. Jáván élő asszonyokról például leírták, hogy ebből a célból szárított placentát kaptak vagy megették saját placentájukat [2]. Már az ókori római, ill. perzsa és egyiptomi orvosok is egyértelmű összefüggést írtak le a férfi és a női testnedvek találkozásának az utódnemzéshez való szükségességéről, ám mivel konkrét embriológiai és mikroszkópos ismeretekkel nem rendelkeztek, így magának a fogamzásnak a ténye nem volt ismert.

Az európai korai középkori általános vélekedés szerint a meddőség egyedül női partnerben keresendő okokra volt visszavezethető, ennek hátterében sokszor lelki bűnbeesést tulajdonítottak. Jellemző volt, hogy amennyiben egy asszony nem esett teherbe (függetlenül annak okától) az már önmagában válóoknak minősült.

Ezt követően, a felvilágosulás korában a tudomány iránt érdeklődő közösségekben már nem volt evidens, hogy automatikusan a nőket okolták volna a pár gyermektelenségéért, sőt a XVII. századi Angliában a meddő férfiak már komoly egészségügyi és szociális problémaként voltak kezelve, mivel a terméketlenség ugyanolyan elítélendő és a férfiasságot aláásó dolog volt, mint az impotencia [3]. Mindezek ellenére, a széleskörű vélekedés továbbra is a nők problémájának ítélte a gyermektelenséget, de a tudományos kíváncsiság sok kutatót ösztönzött a férfi oldal megtermékenyítésben játszott szerepének vizsgálatára.

Már azelőtt, hogy Leeuwenhoek 1667-ben tudományosan is leírja a mikroszkóppal látott spermiumok létezését, a kor orvosai is már egyértelmű összefüggést írtak le az ejakulátum és a terhesség között. Felismerték, hogy az ejakulátum a megtermékenyítő-képesség fontos eleme, amely életet ad, ám azt a vér finomított szűrletének vélték és jelenlétét illetve mennyiségét a táplálkozással hozták összefüggésbe.

William Harvey 1651-ben közzétette a „Exercitationes de Generatione Animalium” című könyvét, melyben leírja az embriogenezisről és a fogamzásról szóló elméleteket. Azt állította, hogy „Ex Ovo Omnia”, azaz az egész élet tojásból származik; szemben az addig elfogadott spontán generáció elméletével, amely azt állította, hogy az élőlények nem életképes anyagból fakadnak. Harvey könyvében következetes információkat nyújt a fogamzásról és az embriók fejlődéséről, annak ellenére, hogy akkor még a spermium és a petesejt nem voltak ismertek.

A mikroszkóp alatt felfedezett spermiumokat először parazitáknak hitték, és szerepének csak valamilyen trigger mechanizmust tulajdonítottak a megtermékenyítésben. Később úgy vélték, hogy a spermium feji részében egy előre formált, miniatűr embrió helyezkedik el (homunculus) ami a terhesség megkezdése után kezd el növekedni az anya szervezetében. (Preformáció-elmélet).

Ennek az elméletnek a megdöntésében az első lépés egy Caspar Friedrich Wolff által 1759-ben közzétett tanulmány volt, melyben a szerző megállapította, hogy a fejlődés kezdetén egy, az egyes szülők nemi szervéből képződött, homogén csíra a megtermékenyülést követően fokozatosan fejlődni, organizálódni kezd. Ez az állítás Epigenesis teória néven vált ismertté. Először ezt az elméletet hevesen megkérdőjelezték, ám idővel megerősödött, főként miután felfedezték a petesejtet, valamint azt, hogy mind a növényi, mind az állati szövetek sejtekből állnak, és ezek az összes élőlény morfológiai és funkcionális egységei (sejtelmélet). Miután kiderült, hogy az összes sejt már létező sejtekből származik sejtosztódással, új fejezet nyílt az embrionális fejlődés megértéséhez.

1824-ben Jean-Louis Prévost és Jean-Baptiste-André Dumas bizonyították, hogy a spermiumok szükségesek a megtermékenyítéséhez: különböző típusú állatok spermáját vizsgáló, széles körű vizsgálatok során megállapították, hogy mozgó spermiumok találhatók a szexuálisan érett férfiak, illetve gerinces és gerinctelen állatok hereszöveteiben is. Felfedezték, hogy a szexuális érettség előtt még nem találhatók spermiumok a herékben és megfigyelték, hogy ha a desztillált vízbe békapetét és herekivonatot raknak, a békapeték folyamatos változáson mennek keresztül, mely tulajdonképpen a korai embriogenezis leírása volt [4].

Mivel a spermiumok számlálásához addig nem voltak meg a feltételek, a XIX. században a férfi meddőség kivizsgálása gyakorlatilag a közösülési képesség vizsgálatára terjedt ki. Később már a posztkoitális váladék vizsgálatával, abban a spermiumok jelenlétének kimutatásával és az ejakulátumban lévő spermiumok számolásával tulajdonképpen a modern kori spermatológia alapjai kerültek lefektetésre. Magának az ejakulátumnak tudományos elemzésére és így annak minőségének esetleges javítására való igény a 1900-as évek elején merült fel. Ennek ellenére az 1930-as évek előtt a sperma klinikai elemzése gyakorlatilag nem volt kivitelezhető, mivel nem álltak rendelkezésre olyan standardizált adatok, melyekhez viszonyítva meg lehetett volna állapítani a férfiak megtermékenyítési képességét [5].

A múlt század 30-as éveiben aztán egyre több vizsgálat jelent meg, ahol már biometriai analízisek, festési eljárások alapján sikerült egy referenciaértéket felállítani mind morfológiai mind kvantitatív szempontból. Macomber és Sanders 1929-es tanulmányukban egyértelmű összefüggést mutattak ki a teherbeesések és a 60×10^6 spermiumszám/ml érték között. Ez lett az a referenciaszám, amelyet először alkalmaztak a klinikai gyakorlatban a spermiumszám normál értékeként [6].

1.2. A mesterséges megtermékenyítés története

Az első dokumentált emberen végzett mesterséges inszeminációt egy John Hunter nevű sebész végezte Londonban, az 1700-as évek végén, az első, sikeres terhességgel járó beavatkozást pedig az 1800-as évek közepén egy J Marion Sims nevű amerikai orvos végezte. Az első in vitro fertilizációval született nyulat 1939-ben mutatták be. Az eljárást Gregory Pincus amerikai biológus végezte, egy nőtény nyúl eltávolított petesejtjét sós vizes közegben megtermékenyítve egy másik nyúl uterusába visszaültetve.

Az első sikeres, azaz egészséges élő gyermek születésével járó humán in vitro fertilizációt (IVF) 1978-ban Steptoe és Edwards végezte egy petevezeték elzáródással diagnosztizált nőbetegen [7,8]. Az IVF során hormonális stimulációt követően ultrahang vizsgálattal követik a tüszők érését. Megfelelő időben az érett petesejtet tartalmazó tüszőtartalmat vékony tűvel – ultrahang ellenőrzése mellett – leszívják és a kinyert petesejtet egy speciális tápoldatba helyezik, majd az oldathoz adják az ugyancsak speciálisan előkészített hímivarsejteket. Amennyiben mikroszkópon keresztül megtermékenyülés, sejtosztódás látható, a leszívást követő 2-3. napon a szabályosan osztódó embriókat visszaültetik az méhbe. Az IVF különösen hasznos a férfi partner alacsony spermiumszáma, a női partner endometriosisa esetén, illetve – az Intracitoplazmatikus Spermium Injektálás (ICSI) megjelenéséig – az egyetlen lehetséges megoldása volt a teherbeesésnek kétoldali petevezeték elzáródás esetében.

A férfi eredetű meddőség miatti gyermektelenség megoldásában mérföldkő volt az ICSI kidolgozása, melyet Lanzendorf és munkatársai publikáltak 1988-ban [9]. Ez azért forradalmi eljárás, mert ebben az esetben már akár egyetlen, alkalmas hímivarsejt elegendő a megtermékenyítéshez. Az eljárás során a hímivarsejtet vékony, hegyes végű pipettába szívják és mikroszkópos kontroll alatt azt közvetlenül a leszívott petesejtbe injektálják. Ezt követően az eljárás a klasszikus IVF lépéseit követi, azaz jó megtermékenyülés és osztódás esetén az embrió a méhüregbe visszahelyezik.

Ez az eljárás már azozoospermia esetén (azaz, ha az ejakulátum nem tartalmaz spermiumot) is elvégezhető, amennyiben a herében fellelhető már beültetésre alkalmas érettségi fokú spermium előalak. Ebben az esetben a heréből vagy a mellékheréből az ún. Testicular Sperm Extraction (TESE), vagy Micro Epididymal Sperm Aspiration (MESA) technikák alkalmazásával – nyílt műtéttel vagy percutan tűszúrással – vesznek szövetmintát. Az ily módon nyert szövetmintát a továbbiakban az embriológiai laboratóriumban megvizsgálják és élő spermium tartalom esetén ezeket használják fel a megtermékenyítés céljára. A beavatkozás történhet mikroszkópos műtéti eljárással is (Microdissection Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)). Ahhoz, hogy megértsük, hogy miért lehet a heréből vett sejtekkel beültetést végezni, a következő fejezet áttekinti a spermiogenezis, illetve a spermatogenezis folyamatait.

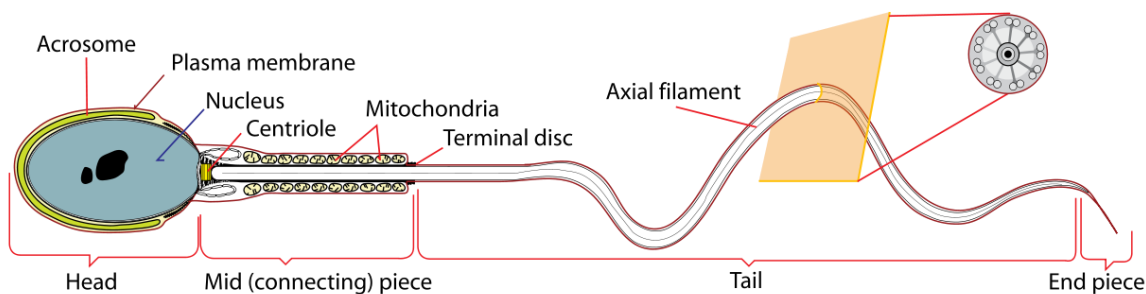
1.3. Spermatogenezis

A spermiumok a here parenchimáját alkotó kanyarult csatornában (tubuli seminiferi contorti) fejlődnek ki osztódás és differenciálódás útján. A Spermatocytogenesis során a

herecsatorna lamina basalisán nyugvó kerek sejtekből egyrészt A-típusú spermatogoniumok lesznek, melyek továbbra is összejtéként funkcionáló differenciálatlan spermatogoniumok maradnak, másrészt B-típusú spermatogoniumok alakulnak ki, melyek további spermium-előalakokká, elsőrendű spermatocytákká osztódnak mitózissal. A spermatogenezis következő szintjén az elsőrendű spermatocyták a meiosis profázisába kerülnek, mely mintegy 22 napig tart. Ez alatt az idő alatt a homológ kromoszómák egymásmellé rendeződnek, ekkor történik a „*crossing over*”, azaz a kromatidok átkeresztezése és a kromatid darabok kicserélődése. Így a meiosis további szakaszaiban történő osztódás során az anyai és apai eredetű kromoszómák már véletlenszerűen oszlanak szét az utódsejtekben, a másodrendű spermatocytákban. Ekkorra a sejtek kromoszomagarnitúrája 22+X vagy 22+Y, de mindegyik két kromatidból áll, azaz a sejtmagok DNS tartalma diploid. Ezt követően jön létre a második meiotikus osztódás, melynek során a másodrendű spermatocyták haploid DNS tartalmú spermatidákká osztódnak [10,11].

A spermatidák ezután egy érési folyamaton mennek keresztül (spermiohistogenesis) melynek végére alakulnak ki az érett hímivarsejtek [12]. Fentiek alapján tehát azon hímivarsejt előalakok, melyek már haploid DNS-el rendelkeznek, de még nem fejeződött be az érési folyamatuk, még alkalmatlanok a spontán természetes megtermékenyítésre, ám genetikai állományuk alapján a petesejtbe direkt bejuttatva (intracytoplasmaticus injektálás) alkalmasak lehetnek annak megtermékenyítésére. Ezen előalakok kinyerése a fentebb leírt technikákkal (TESE, MESA) történik.

Ahhoz, hogy természetes úton történő megtermékenyítés jöjjön létre, a spermiumok teljes érési folyamata végbe kell menjen. Ezen érési folyamat végeredménye az érett spermium, melynek feji részén ún. akroszóma-sapka található. Ez az akroszóma-sapka bontó enzimeket, többek között hialuronidázt tartalmaz, melyek szükségesek a petesejt zona pellucidáján (ZP) történő áthaladáshoz, a hímivarsejtek genetikai állományának petesejtbe juttatásához. (1. ábra)



1. ábra: Érett spermium

(Forrás: https://en.wikipedia.org/wiki/File:Simplified_spermatozoon_diagram.svg)

1.4. Kapacitáció

A teljes megtermékenyítő képességet az érett spermium végül csak a női genitális traktusba jutva nyeri el, ahol a magban és az akroszómában további kémiai folyamatok játszódnak le, változik az intracelluláris ionok összetétele és fokozódik a sejt metabolizmusa. Ezt a folyamatot kapacitációnak nevezzük [13,14].

A kapacitáció során a spermiumról leválnak bizonyos, a mellékheréből és a szeminális plazmából származó, nem kovalens kötéssel kapcsolódó szterinek (például koleszterin) és glikoproteinek, melynek hatására megváltozik a sejtek membránszerkezete. Az eredmény egy folyékonyabb membrán, amely megnövekedett Ca^{2+} permeabilitással rendelkezik. A Ca^{2+} beáramlása megnöveli az intracelluláris cAMP szintet, ezáltal megnöveli a motilitást. Ezzel egyidőben a hímivarsejtek feji részének membránja is destabilizálódik, ami megkönnyíti a petesejtbe történő bejutását [15].

1.5. A hímivarsejtek működését károsító tényezők

A spermiumok termelődése, érése és megtermékenyítő képessége számos szervezeten belüli és szervezeten kívüli ágentől függ. A hímivarsejt termelődésének, érésének, transzportjának, a petesejthez történő kötődésének és az abba való bejutásának és a genetikai állomány átadásának zavara értelemszerűen férfi meddőséghez vezethet. Ezen ágensek némelyike nem befolyásolható, némelyik viszont műtéti úton vagy célzott illetve empirikus kezeléssel orvosolható.

1.5.1. Elhízás

Az elhízás a nyugati világ egyik fő egészségügyi problémája. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) szerint, 2016-ban közzétett adatok alapján, a túlsúlyos felnőttek száma meghaladja az 1,9 milliárdot, az elhízott emberek száma pedig a 650 millió főt [16].

A túlsúlyosságnak a férfiak nemzőképességére kifejtett hatását mind állati modelleken, mind emberekben alaposan tanulmányozták, és tényét széleskörűen elfogadták [17-23]. Számos tanulmány alátámasztja, hogy a testtömegindex ($\text{BMI} = \text{Body Mass Index}$) sok egyéb életmódbeli tényezővel együtt (dohányzás, koffeinbevitel, kábítószer-használat, stb.) szintén negatív hatással van a férfiak termékenységére [24,25]. A magas BMI szoros összefüggésben áll az ondómennyiség csökkenésével [26], továbbá a tesztoszteron és a sex hormone binding globulin (SHBG) csökkent plazmakoncentrációjával és az ezzel járó emelkedett ösztrogén

plazmakoncentrációval is. Emellett a magasabb BMI esetén alacsonyabb LH és FSH hormon szinteket detektáltak, ami arra utal, hogy az elhízás hatással van a hipotalamusz – hipofízis tengely neuroendokrin szabályozó rendszerére is. Ennek hátterében az állhat, hogy a zsírszövet – főleg inzulinrezisztens esetekben – aromatázt expresszál, ami a tesztoszteront ösztradiollá alakítja. Ez az ösztadiol negatív visszacsatolás során csökkenti az agyalapi mirigy gonadotropin szekrécióját[27]. Ennek megfelelően bizonyos klinikai vizsgálatok azt mutatták ki, hogy az aromatáz-gátló kezelés jó hatású a férfi infertilitásra [28].

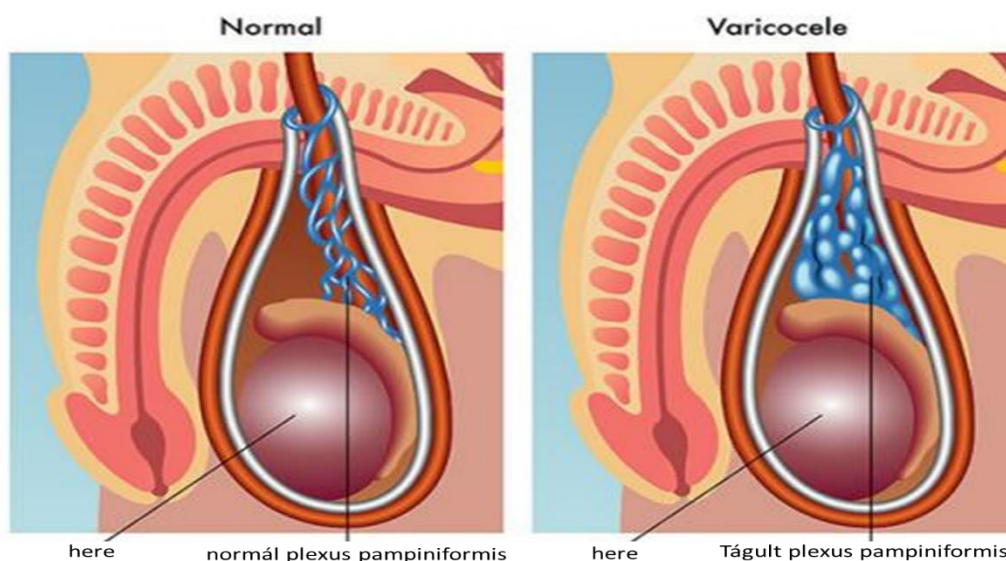
Az elhízás alvási apnoét is okozhat, mely felborítja az éjszakai tesztoszteron hormonszint ritmusát [29]. Ezen hormonális változások károsodott spermatogenezist eredményeznek [30]. A túlsúlyosság csökkent DNS integritást és oxidatív stresszt okozhat [31], ugyanakkor az ondó paraméterei nem feltétlenül vannak ilyen egyértelmű kapcsolatban vele [32,33].

1.5.2. Varicokele

A varicokele a plexus pampiniformis abnormális tágulata, mely a vér visszafele áramlását okozza (2. ábra). Hátterében a vénabillentyűk hiánya, vagy elégtelensége, illetve a jobb és bal oldali vena spermatica közti anatómiai eltérés állhat [34]. A varicokele heretáji fájdalmat, a herefejlődés elmaradását, hypogonadismust és nemzőképesség-csökkenést okozhat. A spermatogenesisre gyakorolt negatív hatásának háttere még pontosan nem tisztázott, de számos faktor közrejátszhat benne. A reflux miatt megnövekedik a scrotális hőmérséklet, fokozódik az intratesticularis nyomás, így hypoxia és oxidatív stressz lép fel, a veséből és mellékveséből toxikus anyagok áramlanak vissza és károsítják a herét, hormonprofil eltérések lépnek fel, illetve a spermiumellenes antitestek képződésének kockázata megnőhet [35,36]. A varicokele az egyik leggyakoribb oka a férfi meddőségnek. A teljes felnőtt férfipopulációban mintegy 20%-os gyakorisággal fordul elő és elérheti a 40%-ot a meddő férfiak körében [34]. Megközelítőleg 90%-ban bal oldali a varicokele előfordulása. Amennyiben bal oldali az elváltozás, úgy 30%- 40% az esélye annak, hogy valójában kétoldali a betegség [34]. Izolált jobb oldali varicokelénél ellenben a lehetséges vesetumort mindig ki kell zárni [34].

A Valsalva manőverrel végzett fizikális vizsgálatot követően a diagnózisunkat color-flow Doppler UH vizsgálat erősítheti meg, a here körüli vénákban lassult áramlást mutatva, a vénák átmérője pedig típusosan nagyobb mint 3 mm. A varicokele súlyossági foka a subklinikaitól az 1-től 3-as fokú klinikai stádiumig terjed, valamint összefüggés mutatható ki a spermiumtermelés károsodása és a varicokele súlyossági fokozata között [35].

Műtéti megoldás csak azoknál az eseteknél javasolt, ahol klinikai varicokele mellett azonos oldali herevolumen csökkenés és/vagy abnormális spermiumkép, továbbá mással nem magyarázható infertilitás áll fenn [37,38]. Számos tanulmány megerősítette, hogy varicokelectomia után 30%-tól 60%-ig terjedő spermiumkép javulás érhető el [39,40]. A terápiás lehetőségek között scleroterápia, embolizáció és különböző műtéti megoldások szerepelnek. Jelenleg a subinguinális mikrodisszekciós módszer bizonyult a leghatékonyabbnak. Ennél a beavatkozásnál a legkisebb a szövődmény- és recidívaarány [37]. A legújabb tanulmányok alapján, a megfelelően szelektált férfiak közül a varicokelectomia a spontán fogant terhesség valószínűségét is növeli [35]. Emellett a másik leggyakrabban alkalmazott eljárás a laparoscopos véna spermatica klippelés, mely ugyancsak jó hatású, és aránylag egyszerű és gyors kivitelezhetősége miatt népszerű eljárás. A nyílt varicokelectomia – amikor az inguinalis régióban keresik fel a tágult vénákat és kötik le azokat – napjainkra sokat veszített népszerűségéből, mivel a nyílt műtét hátrányai mellett a finom, minél inkább nyirokér kímélő eljárás előnyei is hiányoznak ezen eljárás során, így az ilyen típusú beavatkozás esetén a leggyakoribb a későbbi szövődményként jelentkező hydrokele kialakulása.



2. ábra: Varicokele
<https://www.stgeorgeurology.com.au/varicocele>

1.5.3. Genetikai eltérések

A férfi meddőség hátterének mintegy 10–15%-ában kromoszómaeltérések és génmutációk állnak [41]. Amennyiben ez a páciensnél felmerül, genetikai vizsgálat elvégzése szükséges.

Klinefelter-szindróma: a leggyakoribb nemi kromoszóma rendellenesség [42]. Ezen betegeknél a Leydig sejt funkció károsult, kisméretűek a herék, a fenotípusukban pedig az androgén deficiencia mutatkozik meg. A Klinefelter mozaicizmussal rendelkező betegeknél spermatogenesis fennállhat [43,44]. Ezekben az esetekben TESE vagy micro-TESE végzése javasolt és a mesterséges megtermékenyítés (IVF/ICSI) is sikeres lehet.

Sertoli cell only (SCO)-szindróma esetén a herékből hiányzik a csírasejtet termelő hám. Az elváltozás érintheti az egyik, vagy mindkét oldali herét. Fokális SCO esetén micro-TESE és ICSI segítségével a terhesség elérhető. Az esetek nagy része idiopathiás, de újabb kutatások bizonyították, hogy az SCO-t okozhatja genetikai rendellenesség, mint például az Y kromoszóma Yq11 vagy más néven az AZF (azoospermia factor region) régiójában bekövetkezett mikrodelécia [45].

Y-kromoszóma mikrodelécia: A férfi meddőség hátterében egyik gyakori genetikai ok az Y kromoszóma hosszú karján lévő, mikroszkóppal nem detektálható deléciók jelenléte. Ezek a deléciók legtöbbször azoospermiával járnak együtt, de bizonyos régiókban lévő deléciók csak oligozoospermiát okoznak. A mikrodeléciók sokszor mozaikos formában jelentkeznek, melyek kimutatása különösen nehéz, ám súlyos fokú oligozoospermia illetve azoospermia esetén fontos erre a genetikai elváltozásra is gondolni, melynek jelentősége nem a terápiában van, hanem abban, hogy a delécia sikeres intracitoplazmatikus iniciálás (ICSI) során a fiú utódban is jelen van. Mivel az y kromoszóma mikrodelécia a kor előrehaladtával romló spermiumképet is tud okozni, ilyen esetben a tudott átöröklés esetén a fiúgyermeknél minél hamarabbi spermiumanalízis és lehetőség szerinti spermiumfagyasztása is javasolt [46].

Kallmann-szindrómában urológiai szemszögből hypogonadotrop hypogonadismus, hereleszállási zavar, egyoldali vese-aplasia fordulhat elő. Kezelésként hormonterápia jön szóba HCG (humán chorion gonadotropin)-vel vagy HCG és FSH (follikulusstimuláló hormon) együttes adásával, mellyel indukálható a herefejlődés és a spermatogenesis [47].

Cisztás fibrózis (CF): egy autoszomális recesszíven öröklődő betegség. A mutáció egy, a kloridion-transzportban szerepet játszó ioncsatornát kódoló génen (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator – CFTR) jelentkezik. Ezeknél a betegeknél az ondóutak fejlődési rendellenessége jelenhet meg. A vas deferensek veleszületett hiánya lehet egy vagy

kétoldali (congenital unilateral absence of the vas deferens – CUAVD; congenital bilateral absence of the vas deferens – CBAVD) [48]. Amennyiben CBAVD, CUAVD vagy idiopathiás mellékhere-obstrukció diagnózisa felmerül, a CFTR-gén mutációjának vizsgálata javasolt [49]. CBAVD-vel rendelkező betegnél TESE útján lehet spermiumot nyerni, viszont fontos hogy, gyermekvállalás előtt a partnert is szűrni kell CF mutációra. Amennyiben a partner hordozó, CF vagy CBAVD kialakulásának az esélye az utódnál 50% [50]. Mindazonáltal CUAVD-vel rendelkező betegek általában fertilisek.

Egyéb genetikai kórképek

A teljesség igénye nélkül megemlíthető a *testis expressed 11 (TEX11) génmutáció*, *Prader-Willi-szindróma*, *Noonan-szindróma*, az *androgén-inszenzitivitás* kórképei, Robertson-transzlokáció stb. Ezen elváltozások ritkák, valamint ezeknél a betegeknél a gyermekvállalás sem szokott általában felmerülni.

1.5.4. Obstrukció

Obstructiv azoospermia során az ondóban spermium nem található. Az ondóutak elzáródása a herétől a mellékherén, vas deferensen keresztül a ductus ejaculatoriusokig tartó szakaszon fordulhat elő, mely az azoospermiás esetek mintegy 40%-áért felelős [49]. Az intratesticularis obstructio kezelésében csak a TESE jön szóba, azonban mellékhere obstructionál MESA ajánlott. Vas deferens szintjében található elzáródás esetében vasovasostomia, a ductus ejaculatoriusok obstructiója esetén pedig az ejaculatorius ductusok transurethralis rezekciója (transurethral resection of the ejaculatory ducts – TURED) javasolt.

1.5.5. Hereleszállási zavarok

A hereleszállási zavarok a leggyakoribb nemi szerveket érintő eltérések. A nem descendált herében a csírasejtek degenerációja az első életévben megkezdődik. Egyoldali hereleszállási zavar esetén a gyermeknemzés esélye szinte megegyezik az ilyen problémával nem rendelkezőkével (89,7% vs. 93,7%) [38]. Kétoldali hereleszállási zavar esetén azonban a spermatogenezis túlnyomó többségben károsodott, a fertilitási képesség ezeknél a betegeknél 35–53%-ra csökken [51]. A retineált here scrotumban való rögzítése (orchidopexia) javasolt az első- második életév során. Gyermekkorban hormonális kezelés is megpróbálható, míg felnőttkorban ellenjavallt. Postpubertálisan a nem descendált herékben megnő a malignus tumorok kialakulásának a kockázata. Felnőttkorban ezért eltérő terápiás protokollokat alkalmaznak: kétoldali cryptorchismus esetén orchidopexia javasolt, míg egyoldali cryptorchismus esetén a retineált here tumorprevenció céljából végzett eltávolítása, mely

beavatkozás a fertilitást nem befolyásolja [52]. Felnőttkorban végzett orchidopexia során herebiopsia elvégzése szükséges, in situ carcinoma kizárása céljából. Felnőttkori orchiectomia esetén a contralateralis herebiopsia elvégzését el kell végezni az ún. „high risk” (magas kockázatú) csoportba eső pácienseknél [53].

1.5.6. „Idiopathias férfi meddőség”

A férfigeddőség vizsgálatát során legalább 44% -ában nem találtak bizonyítékot a meddőségre [38]. Ezekben az esetekben valószínűleg a nem kimutatható női okok is szerepet játszhatnak, és sokszor valószínűsíthető valamilyen – akár átmeneti – funkcionális károsodás (hőhatás, stb.), és az utóbbi időben egyre nagyobb figyelem irányul az oxidatív stressz okozta károsodásra is.

1.6. Az oxidatív stressz hatása a spermiumok megtermékenyítő képességére

Ismert, hogy az oxidatív stressz hozzájárul a spermatogenezis károsodásához, mivel a spermiumok plazmamembránja nagy mennyiségű telítetlen zsírsavat tartalmaz, amely a sejteknek az akroszóma reakciójához és az oocita membránjaival való fúzióhoz szükséges. A telítetlen zsírsavak jelenléte azonban a membránt különösen érzékennyé teszi az oxidatív károsodásra. A magas reaktív oxigén szabadgyökök (ROS – Reactive Oxygen Species)-szintet (mint például a szuperoxid-anion és a hidrogén-peroxid) termelő spermiumok nem képesek a petesejt membránjával való fúzióra, ami férfi infertilitáshoz vezet. Emellett az ejakulátum plazmában jelen lévő fehérvérsejtek, különösen a neutrofilek, ugyancsak potenciális ROS-termelők lehetnek. Az antioxidáns-terápia ezért egyre inkább figyelmet kap, mivel hasznos lehet az oxidatív stressz okozta infertilitás kezelésében [54].

Az oxidatív stressz hozzájárul a spermatogenezis károsodásához, ami a férfiak infertilitásához vezet. A férfiak reproduktív szerveiben gyarapodó reaktív molekulák (oxigéngyökök, OH) károsíthatják a spermiumok sejtmembránját, ez pedig számottevően csökkent megtermékenyítő képességhez vezet. Az antioxidáns-terápia ezért hasznos lehet az oxidatív stressz okozta infertilitás kezelésében [55,56]. Legjobban az E- és C-vitamin, az L-karnitin, a cink, a Q10-koenzim és a folsav, valamint újabban a D3-vitamin hatását vizsgálták [57-65] és általánosságban kijelenthető, hogy az antioxidáns-terápia javíthatja a spermiumkoncentrációt és -motilitást, és mindemellett csökkentheti a DNS-fragmentáció mértékét is a spermiumban [66].

A komplex kiegészítő terápia előnyeit korábban alaposan tanulmányozták. Egy prospektív nyílt

klinikai vizsgálatban Busetto és mtsai (2012) 114 infertilis, asthenozoospermiás egyént kezeltek 18 hónapig komplex kiegészítő terápiával. A tanulmány végén, legalább 4 hónapos kiegészítő terápia után, nem volt szignifikáns javulás a spermiumkoncentrációban; azonban a progresszív spermium motilitás szignifikánsan nőtt, és 16 beteg partnere teherbe esett [67]. Az IVF-programban részt vevő férfiaknál az ondó minőségét is vizsgálták antioxidáns-terápia előtt és után egyaránt. Az eredmények azt mutatták, hogy az antioxidáns- és a mikronutriens-szupplementáció észrevehetően előnyös volt az IVF-résztvevőknél, különösen azoknál, akiknél oligo-astheno-teratozoospermiát (OAT) állapítottak meg [68]. Egy másik tanulmányban varicokeléssel diagnosztizált betegeket figyeltek meg műtét és kiegészítő terápia után. Azizollahi és mtsai. azt állapították meg, hogy a varicokelectomiát követő folát- és cink-szupplementáció eredményeképpen javult a spermiumok minősége, tehát ez egy hatékony kiegészítő terápia lehet a műtéti beavatkozás mellett [69].

1.7. Empirikus kezelések

Az idiopathiás férfi meddőség empirikus gyógyszereinek széles körét alkalmazzák, ám az empirikus megközelítésre kevés tudományos bizonyíték áll rendelkezésre. A klomifen-citrátot és a tamoxifent széles körben alkalmazták az idiopathiás OAT-ban, és egy, a közelmúltban végzett metaanalízis szerint, a spermiumok minősége és a spontán terhességek aránya javult a kezelés hatására [70]. Az androgének, a bromokriptin, az alfa-blokkolók, a szisztémás kortikoszteroidok és a magnézium-kiegészítők azonban nem hatékonyak az OAT-szindróma kezelésében. Egy 2013-ban készült áttekintő tanulmány eredményei azt sugallják, hogy a gonadotropinok (HCG/HMG – humán chorion gonadotropin/humán menopauza gonadotropin –, FSH vagy rekombináns FSH (r-h FSH)) előnyösek lehetnek az idiopathiás férfi faktor szubfertilitás kezelésében, ami a teherbeesések és az élve születések arányát tekinteti [71].

Az orális antioxidánsokat szedő férfiaknál szignifikánsan javultak a spermiumok paraméterei [72] és növekedés volt látható az élve születési arányban is IVF esetén [73]. Mindazonáltal a természetes koncepcióval kapcsolatban az antioxidánsok szerepe további vizsgálatokat igényel [74].

1.7.1. Micronutriensek szerepe a fertilitásban

A női prekoncepcionális folsav szedése óta tudjuk, hogy önmagában a táplálkozás nem mindig nyújtja ugyanazokat az előnyöket, mint a szupplement terápia.

A férfiak megtermékenyítő képességére ható ismert károsító tényezők kiküszöbölése mellett sokszor merül fel az igény olyan kezelésre, mely nem egy ismert, konkrét kóros állapot megváltoztatására irányul, hanem olyan vitaminokat, ásványi anyagokat, nyomelemeket, aminosavakat juttat be a szervezetbe, melyek antioxidáns vagy egyéb hatásmechanizmus útján segít a csökkent spermatológiai paraméterek és a spermium funkció javításában.

Papp György a 2000-es Andrológiai tankönyvében említi a cink-, a Pentoxifillin-, és a vitaminkezelés, illetve az aminosav- és a nukleotid terápia jótékony szerepét [13]. Cink kezelés hiányában a spermiumok érése, azok száma és mozgékonyága is zavart szenvedhet. Ugyanakkor a cinknek ondóhólyag és prosztatata szekréciós zavarok esetén is kedvező a hatása. A Pentoxifillin kezelés a spermiumok számának növekedését és mozgási paramétereinek javulását eredményezi. Az antioxidáns hatású C és E vitamin a spermiumok membránkárosodását okozó ROS ellen lép fel, ezáltal ezen vitaminok segítségével megakadályozható a membránkárosodás és a következményes mozgékonyági habitus csökkenés. Ugyancsak antioxidáns és emellett homocisztein-toxicitás gátló hatása van a B12 vitaminnak [75]. A spermiumok felszínén és a hereszövetben is kimutattak D vitamin receptorokat, és több tanulmány is igazolta, hogy a D vitamin jó hatású, a férfi megtermékenyítő képességre, valószínűleg a spermiumok mozgásának javítása miatt [76]. Az aminosav terápia hatékonysága abból adódik, hogy, az aminosavak egyrészt a spermiumok mozgékonyágában szerepet játszó struktúrfehérjék alkotói, másrészt megkötik a toxikus nehézfém ionokat, ezáltal védik a spermiumokat. Ezért alkalmazható pl. az arginin a spermiumok motilitásának fokozására [77], valamint jól ismert a karnitin fontos szerepe a spermiumok érési folyamataiban is [78]. A taurinnak leírták, hogy antioxidáns hatása mellett az FSH és tesztoszteron szekréciót fokozó hatása révén pozitív hatása van a spermium paraméterekre is [79]. Végezetül a nukleotidok jelenléte pozitív hatással van az ivarsejtek differenciálódására, segítik a fehérjeszintézist és energiát biztosítanak a folyamathoz, mindemellett a spermiumok flagellumainak rotációját is fokozzák.

Napjainkban több olyan komplex készítmény is elérhető, amely egy tablettában tartalmazza a jótékony hatású vitaminokat, aminosavakat, nyomelemeket, melyek hasznos kiegészítői lehetnek a férfimeddség terápiájának.

1.8. Az andrológia mint tudományág

A férfi megtermékenyítő-képesség vizsgálatával és kezelésével egy, a klasszikus orvostudományi diszciplínák között aránylag új tudományág, az andrológia foglalkozik. Az andrológia a kezdeti korszakában gyakorlatilag a spermatológiai vizsgálatokra specializálódott, később azonban komplex férfigyógyászati tudománnyá vált, mely magába foglalja a merevedési zavarok, az egyéb szexuális problémák, a férfi hormonális változások okozta eltérések kivizsgálását és kezelését, a férfi eredetű meddőség gyógyszeres és operatív kezelését, a férfi fogamzásgátlás problémakörét, és az utóbbi időben a mesterséges megtermékenyítési eljárások elterjedésével azok obligát feltételévé vált.

1.9. A klasszikus spermavizsgálati paraméterek és a funkcionális vizsgálatok az andrológiai kivizsgálásban

A spermatológia, mint a klasszikus kivizsgálási módszer, alapvizsgálat a férfi infertilitás kivizsgálásában. A konszenzusok (WHO kézikönyv, Krüger kritériumok, stb.) alapján a vizsgálat jól standardizált, így – ideális esetben – minden vizsgálóhelyen azonos értékelési elvek alapján történik az interpretáció, és a vizsgálati eredmények bárhol elfogadhatóak. Ám a klasszikus spermatológia az ejakulátum külleméről, viszkozitásáról, pH-járól, mennyiségéről, a spermiumok koncentrációjáról, mozgékonyságáról és morfológiájáról ad világos képet. Ezek a paraméterek felfedhetik a férfi nemzőképesség zavarát és sok esetben támpontot is adhatnak annak okainak kiderítésére, ám nem ritka, hogy a klasszikus spermium analízis során normál értékekkel rendelkező férfiak a gyakorlatban infertilisek. Ezekben az esetekben a klasszikus spermatológiai vizsgálattal az infertilitás okai egyértelműen nem tárhatók fel, az ezen értékelésen alapuló hagyományos spermium analízis nem feltétlenül tükrözi a spermiumok in vitro vagy in vivo megtermékenyítési képességét [80]. Az elmúlt évtizedekben az intracitoplazmatikus spermium injekció egyre inkább előnyben részesített módszer lett azoknak a meddő pároknak az esetében, akiknél korábban nem sikerült az infertilitás egyértelmű okát igazolni. Ezen eljárások során egyértelművé vált, hogy a klasszikus sperma paraméterek nem befolyásolják az IVF eredményeit, ellentétben azokkal a molekuláris és sejtszintű eltérésekkel, amelyeket viszont az alap spermatológiai vizsgálatokkal nem lehet kimutatni. Mindezek miatt napjainkra az andrológiai klinikumban konszenzus alakult ki arra vonatkozóan, hogy sok esetben átfogóbb spermiumfunkciós vizsgálatokat kell végezni, azaz: a párok terhességi esélyeire vonatkozó

jobb prediktív értékkel rendelkező kiegészítő vizsgálatok szükségesek, illetve hogy fontos, hogy a sejt- és molekuláris szinten előforduló sperma diszfunkciót minél jobban azonosítsuk.

Ideális esetben az ejakulált spermiumoknak jó kapacitációs képességük kell, hogy legyen, fel kell ismerniük a zona pellucidát és képesnek kell lenniük az ún. akroszóma reakcióra, hogy képesek legyenek a petesejt megtermékenyítésére. Az ezeket a képességeket értékelő vizsgálatokat nevezzük spermium funkcionális vizsgálatoknak.

1.10. A funkcionális tesztek szerepe a modern andrológiai kivizsgálásban

Habár a klasszikus spermatológiai eljárások során is léteznek olyan tesztek, melyek a funkcióról is információt adnak, ezen vizsgálatok – pl. a vitális festés – inkább csak a spermiumok életképességéről adnak felvilágosítást, de élő spermium esetén nem tárják fel a sikertelen megtermékenyítés okát férfi oldali meddőség esetén. A modern értelemben vett funkcionális tesztek a spermiumok megtermékenyítő képességét vizsgálják in vitro körülmények között.

1.10.1. Spermium penetrációs teszt

Az egyik első kifejlesztett funkcionális vizsgálat a spermium-penetrációs vizsgálat (SPA) volt [81]. A vizsgálat során a humán spermiumokat hőrcsög petesejtekkel hoznak össze, amelyek nem rendelkeznek zona pellucidával. A vizsgálat a spermiumok kapacitációs képességét, az akroszóma reakciót, az oolemmával való fúziót és azon való áthatolást, valamint a hőrcsög oociták citoplazmájában történő dekondenzációs képességet méri. E vizsgálat standardizálása és reprodukálhatósága alacsony és hátránya, hogy eltér a valós élettani állapotoktól, mivel a zona pellucida nincs jelen az eljárás során, így a terhességi kimenetelre vonatkozó prediktív értéke gyenge [82].

1.10.2. Spermium-zona pellucida kötési tesztek

A spermatazoa és a zona pellucida közötti kapcsolat rendkívül kritikus és a sperma funkció számos jellemzőjével kapcsolatban adnak lényeges információkat az ilyen vizsgálatok. Több, eltérő vizsgálati módszer is létezik, melynek során a hőrcsögből nyert vagy korábbi sikertelen in vitro eljárásból származó petesejtek zona pellucidát fluoreszcens festékkel jelölt spermiumokkal inkubálják, ám mindegyik elsődleges eredményként értékeli a spermiumok szoros kötődését a ZP-hoz [80,83]. Fontos megjegyezni még, hogy magas

prediktív értékeket mutattak ki a sikeres inszeminációs és in vitro fertilizációs kimenetekre.

1.10.3. Hipo-ozmotikus duzzadás teszt

A hipo-ozmotikus duzzadás teszt (hypo-osmotic swelling test – HOST) az életképes spermiumok ép membránszerkezetének meglétére alapul. Az intakt hímivarsejt membránja fontos szerepet játszik a fertilizálási folyamat során. A HOST lényegében egy spermium szelekciós eljárás, amely olyan esetekben indikált, amikor az ejakulátumban nagyon kevés vagy nincs mozgó spermium. A hipo-ozmotikus körülmények között az érintetlen spermium sejtek intracitoplazmatikus terei megduzzadnak, és a farkaik felcsavarodnak. A nem sérült membránnal rendelkező, ám nem élő spermiumok nem képesek megduzzadni a hipotóniás közegben. Ezen vizsgálatnak az eredményei korrelálnak más ejakulátum vizsgálati mutatókkal, mint például a morfológia és a mozgékonyosság, de a termékenységre vonatkozó adatok nem megfelelőek [84].

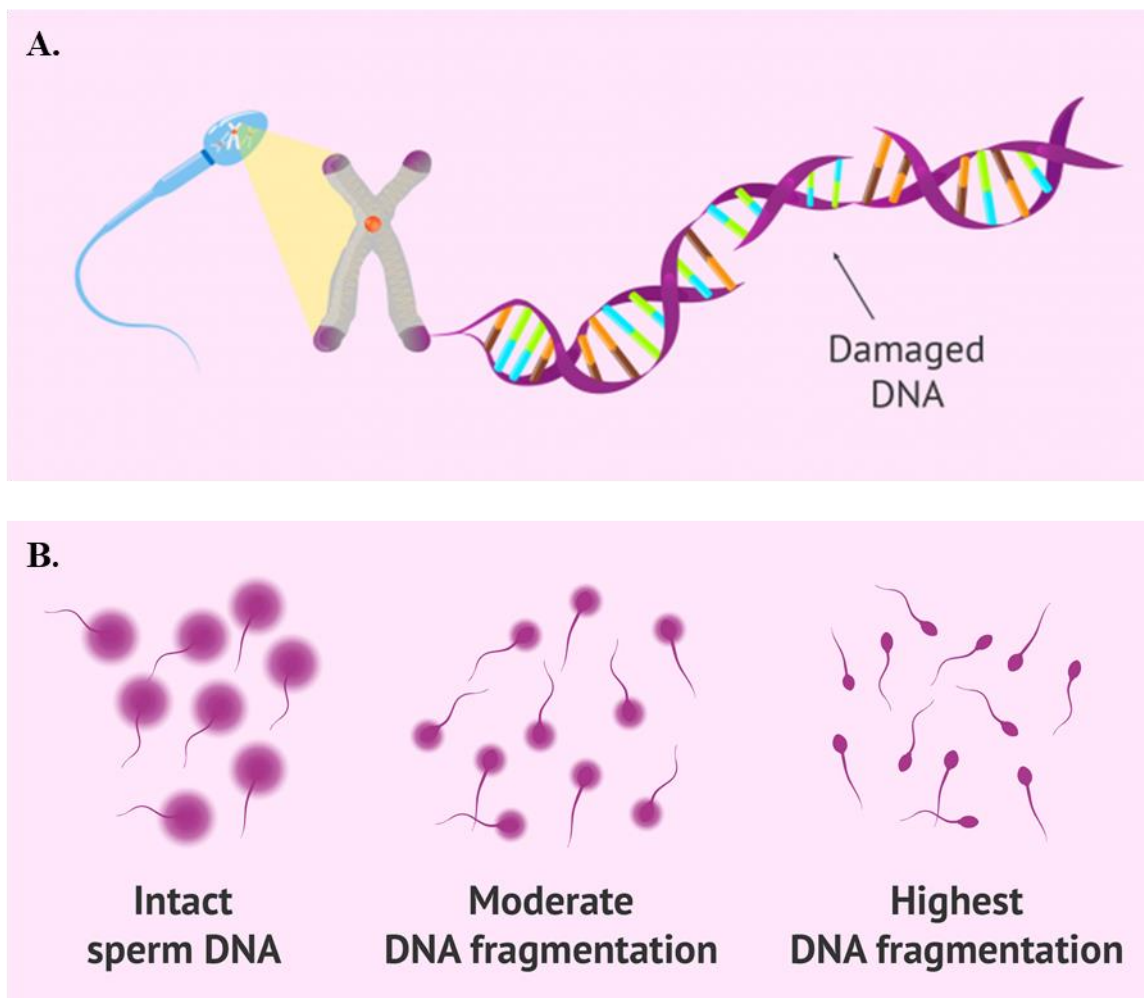
1.10.4. DNS fragmentációs tesztek

Az életképes terhesség kialakulásához kiemelkedő jelentőségű az apai genom integritása. A spermiumban lévő fragmentált DNS nem kompatibilis a normális embrionális fejlődéssel. A DNS-károsodás a spermatogenezis során bekövetkező kromatin átalakulás, apoptózis, vagy DNS-szálszakadás következtében fordulhat elő. Irodalmi adatok támasztják alá, hogy a hímivarsejt mellékherén való áthaladása során bekövetkezett post-testicularis károsodás, a környezeti toxinok vagy ROS által a genitális traktusban indukált frakcionálás is jelentős szerepet játszhat a spermium DNS fragmentációjának kialakulásában [85,86].

A megfelelően csomagolt DNS-t in vitro dekonzenzációval lehet tanulmányozni, amelyet etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA), a petesejtben jelen lévő glutation vagy ditiotreitol (DTT) indukál. Ugyanakkor a sérült vagy nem megfelelően felcsavarodott DNS-sel rendelkező spermiumok nem mutatnak teljes DNS-dekonzenzációt [87,88]. A károsodást mutató spermiumok aránya fontos, mivel a normál mintákban több mint 70%-a a spermiumoknak dekonzenzáció-pozitivitást mutat, és ez az arány egyezik az in vitro fertilizáció során sikeres terhességgel járó beavatkozások arányával [89].

A sperma kromatin dekonzenzáció mértékét az ún. spermium kromatin diszperziós (SCD) teszttel tudjuk kimutatni. E célból a spermiumokat előkezelik olyan anyagokkal, amelyek megakadályozzák a DNS-hurkok kialakulását. Ennek eredményeként az ép DNS-sel

rendelkező spermiumok nagyobb sperma-kromatin-diszperziós arányt mutatnak, míg a sérült DNS-ekkel rendelkező spermiumok esetén a fej körül diszpergált ún. DNS halo-k alacsonyak vagy nem látszanak (3. ábra).



3. ábra:
***Spermium DNS fragmentáció (A.) és azt kimutató „Halo”
 effektus (B.)***

(Forrás: <https://www.invitro.com/en/sperm-dna-fragmentation>)

1.10.5. Hyaluronsav-kötési assay (HBA[®])

Az elmúlt években az andrológiai gyakorlatba bevezetett új, a spermiumok funkcionális vizsgálatát lehetővé tevő tesztek közé tartozik a hyaluronsav-kötési assay (HBA[®]) (4. ábra), amelynek elvégzése egyszerű, ám igen hatékonynak bizonyult a tervezett asszisztált reprodukciós beavatkozás előtt [90].

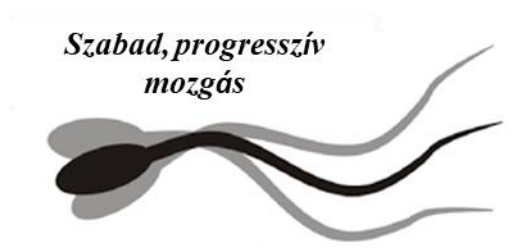
A HBA[®] elméleti alapja az, hogy a hyaluronsav az emberi testben szinte az összes szövettípusban jelen van csakúgy, mint a női genitális traktusban, például a cervikális nyákban

vagy a cumulus oophorusban, amellyel a spermium kapcsolatba lép [91,92]. Csak a hyaluronsav kötő receptorokat (HBR) expresszáló, érett spermiumok képesek a hyaluronsavat tartalmazó poliszacharid mátrixból álló cumulus sejtjeihez kapcsolódni [93]. A spermiumok érési folyamata során a HBR-ek mellett további specifikus receptorok, például a hialuronidáz enzim-aktivitással rendelkező PH20 fehérje is jelen van még az érett spermium membránján és a lizoszómából származó akroszómában is. Az érett spermium ezen enzime (PH20) képes a cumulus oophorus sejtjeit összetartó, hyaluronsavat tartalmazó mátrix feloldására [94]. A spermium és a petesejt közötti kapcsolatot a petesejt felszínén elhelyezkedő, hímivarsejtre specifikus ZP3 (Zona pellucida sperm-binding protein 3)-kötő receptor és az úgynevezett ZP3 horgonyzott fehérje alapozza meg [95]. Fontos megemlíteni, hogy a spermium által expresszált, fent említett receptorok az érési folyamat részei a férfi genitális traktusban; ezért a női genitális traktusra nincs szükség a vizsgálati eljárásban. Újabban bebizonyították, hogy a HspA2 (Heat shock-related 70 kDa protein 2) chaperone fehérje lehet a felelős a spermium éretlensége (amely hozzájárul többek között a hyaluronsav kötő receptor, a ZP3-kötő receptor és a PH20 enzim hiányához) és az aneuploiditás közötti kapcsolatért [96]. Számos tanulmány feltárta, hogy az éretlen spermium HspA2-szintje alacsony, ezért azok nem képesek kapcsolódni a zona pellucidához, ami különböző osztódási hibák emelkedett arányához vezet a meiózis során [97-99]. In vitro csak az érett spermiumok képesek a hyaluronsavval kezelt felszínhez kapcsolódni – hasonlóképp, mint in vivo a zona pellucidához –, ami egy új lehetőséget jelent az érett és az éretlen sejtek megkülönböztetésére.

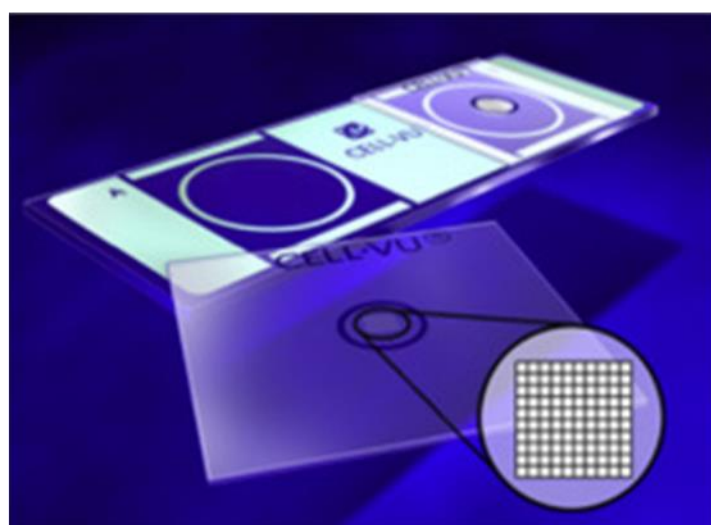
Huszár és munkatársai kifejlesztettek és sikeresen alkalmaztak egy spermiumszelekciós módszert az érett spermiumok ezen hialuronán-kötési képességére alapozva [92,100,101]. A hialuron-kötéssel elvégzett spermiumszelekció egy biztonságos és ígéretes spermiumszelekciós módszer az intracitoplazmatikus spermiuminjekció hatékonyságának javítására, ami elvezetett az „intracitoplazmatikus spermiuminjekcióra kiválasztva” (Picked for Intracytoplasmic Sperm Injection, PICSⁱ, Biocoat Inc., Horsham, PA, USA) módszer klinikai gyakorlatba történő bevezetéséhez [102-106]. Az újabb szakirodalmak a PICSⁱ rövidítés magyarázataként már a „Physiological Intracytoplasmic Sperm Injection” kifejezést adják meg, mely találhatóbb, jobban kifejezi az eljárás lényegét, miszerint a legmegfelelőbb spermium kerül kiválasztásra [107]. Ez a kiválasztás hatékonyan csökkenti a számbeli kromoszomális rendellenességek utód felé történő átadásának kockázatát is [101]. Yagci és munkatársai 2010-ben demonstrálták, hogy a hyaluronsav magas fokú szelektivitást mutat a jó DNS-integritású spermiumokra, és így a HBA[®] vizsgálat információt ad a DNS integritásáról is, sok esetben a genetikai vizsgálat

kiküszöböléséhez vezetve ezzel [108]. Összefoglalva, a spermium kötődése a hyaluronsavhoz (hyaluronic acid – HA) korrelál a következőkkel: a sejt érettsége, alacsonyabb fokú kromoszomális aneuploiditás, csökkent DNS-fragmentáció, a kromatin fokozott integritása, normális fejmorfológia és következésképpen jobb megtermékenyítő-képesség [91]. A hyaluronsavhoz kötődő spermiumok százalékos aránya alapján korábbi tanulmányok meghatározták a férfiak megtermékenyítő-képességének különböző szintjeit. Kiterjedt, jól tervezett tanulmányok megállapították, hogy a terhesség elvesztésének aránya szignifikánsan magasabb volt, ha az eljárás előtti HA-kötődés 65% alatt volt [105], így a hialuronán-kötés alsó referenciahatárát 65%-nak tekintjük.

Kötött, Motilis spermium



Nem-kötött, Motilis spermium



4. ábra: HBA® teszt

1.11.Akroszóma reakció

A petesejt membránját egy glikoproteinekből álló zóna (zona pellucida) veszi körbe, melyeken kívül helyezkednek el a cumulus oophorus sejtjei. A cumulus oophorus sejtjeit nagyrészt hyaluronsav tartja össze, melyen – a spermium membránjához kötött enzimekkel, bontva a sejtek hálózátát – a mozgékony spermiumok áthaladnak, majd az érett és a kapacitációs folyamaton is átment spermiumok érintkezésbe lépnek a petesejt zona pellucidájával. Ilyenkor az akroszómális bontó enzimek kiszabadulnak a már destabilizálódott hímivarsejtből, és a spermium membrán petesejt membránjával való összeolvadásából létre jön a spermium – ovum fúzió. A petesejtben ezen inger hatására beindul a II. meiotikus osztódás, végül a hímivarsejt petesejtbe történő inkorporációjával létre jön a megtermékenyítés, melynek során a sejtmagok membránjának felszakadozásával, a nucleus dekonzenzációjával, továbbá a spermium és a petesejt magjának összeolvadásával beindul az osztódás [13,109].

2. Célkitűzések

Mint a fentiekből látható, a klasszikus spermatológiai vizsgálat gyors, költséghatékony, de számos mai eljáráshoz nem ad lényegi információt, a funkcionális tesztek pedig főleg az in vitro megtermékenyítés szempontjából vizsgálják a megtermékenyítő-képességet. Mivel a spermiumsűrűségekre szükség van a kezelési stratégiákhoz, és a motilitás befolyásolja a HA-kötési kapacitást, azt feltételezzük, hogy a mindennapi andrológiai gyakorlatban a HBA-eredmény egyszerűen önmagában, a spermiumsűrűség és a progresszíven mozgó spermiumok arányának ismerete nélkül nem biztosít elégséges információt a férfiak fertilitásának megítéléséhez.

Kutatócsoportunkban felmerült az igény egy olyan érték felállítására, mely figyelembe veszi a spermiumszámot, a mozgást és jó képet ad a spermiumok kapacitációs képességéről is.

Fontos azt is az meghatározni, hogy hol van az antioxidáns kezelés helye a férfi infertilitás kezelésében, valóban hatékony-e az adjuváns terápia, és hogyan lehet mérni objektív módon annak funkcionális hatékonyságát.

Mindezek alapján első tanulmányunk célkitűzései a következők voltak:

1.) A HBA vizsgálatot tovább fejlesztve új index, a HB-MaSC (Hyaluron Bound Matured Sperm Count) bevezetése, mely a HB kötődési kapacitáson túl figyelembe veszi a spermium denzitást és a mozgékonyságot is. Következésképpen a vizsgálat és eredménye ötvözi a klasszikus és az új funkcionális vizsgálatok elemeit.

2.) Megmérni a perorális kiegészítő terápia hatékonyságát a férfimedddőség kezelésében a HBA pontszám és az új mutató alkalmazásával.

Másik tanulmányunk célja az új index – HB-MaSC – alkalmasságának és felhasználhatóságának vizsgálata andrológiai betegek esetében. Vizsgálatunkban az egyik leggyakoribb károsító tényezőnek, az elhízásnak a konvencionális ondóparaméterekre (spermiumkoncentráció és progresszív motilitás) és a hialuronán-kötésen alapuló megtermékenyítő-képességre gyakorolt hatását, valamint az általunk kifejlesztett új index (HB-MaSC) mindennapi andrológiai gyakorlatban való alkalmazhatóságát elemeztük.

3. Betegek és módszerek

A hyaluronsav-kötési assay és egy belőle származó új fertilitási mutató alkalmaságának a kvantifikálására olyan paraméterek vizsgálatában, mint a férfiak megtermékenyítő képessége és a kiegészítő terápia hatékonysága. 175, több mint 12 hónapig terméketlen kapcsolatban élő, 18 éven felüli beteg adatait vizsgáltuk és értékeltük ki. A rutin andrológiai vizsgálat nem derített ki semmilyen gyógyszeres vagy műtéti kezelésre szoruló rendellenességet. Minden betegnél elvégeztük a fizikális vizsgálatot, a herék ultrahangos vizsgálatát, a mikroszkópos ondóvizsgálatot (a WHO ondóvizsgálatra vonatkozó kézikönyvének 2010-es, ötödik kiadása alapján) és a HBA-tesztet. A tanulmány tartalmazza a 175 férfi közül 39 betegnek a nyomon követését is, akiket mikroszkópos ondóvizsgálattal és HBA[®]-tesztel ellenőriztünk a kiegészítő terápiát követően (kezelt csoport); a fennmaradó 136 betegnél csak egy vizsgálatot végeztünk, mivel ismeretlen okokból nem jelentek meg a kontrollvizsgálaton (kezeletlen csoport), ezért az adataik nem szerepelnek az összehasonlító statisztikai elemzésben.

Az átlagos életkor 33,41 ($\pm$ SD 3,71) év volt a kezelt és később kontrollált férfiaknál ($N = 39$) és 34,65 ($\pm$ SD 4,72) év azoknál a betegeknél, akik az egyszeri vizsgálaton vettek részt ($N = 136$).

Jelen tanulmányban a betegek komplex étrend-kiegészítőket szedtek szájon át a kezelés során, amelyek a legtöbb olyan nutritív tényezőt tartalmazták megfelelő dózisban, amelyek korábbi tanulmányokban hatékonynak bizonyultak, és magas antioxidáns tartalmuk van: L-karnitin-L-tartarát 148 mg, arginin-hidroklorid 90,78 mg, taurin 125 mg, tokoferol-acetát (75%) 105 mg, C-vitamin 63 mg, magnézium-oxid 78,20 mg, cink-szulfát-monohidrát 9,61 mg, béta-karotin (20%) 9,45 mg, D3-vitamin 100 000 IU g⁻¹, B12-vitamin (0,1%) 1,31 mg, piridoxin-hidroklorid 0,97 mg, Q10-koenzim 5,25 mg, folsav 0,21 mg, nátrium-szelenit-mannit (Se 0,2%) 9,19 mg (FER14[®], forgalmazza az Andromedic Kft., Debrecen, Magyarország) [78,102,110-114]. Az étrend-kiegészítő terápia legalább három, legfeljebb hat hónapig tartott a beteg-együttműködéstől függően, és a kontrollvizsgálat a perorális terápia befejezése után történt. A nyomon-követési idő az első vizsgálatot követő 3 és 6 hónap között változott, átlagos hossza 3,4 hónap volt. A megfigyelés ideje alatt nemkívánatos- és/vagy mellékhatások nem jelentkeztek.

A spermatológiai vizsgálatokat egy standard, négynapos önmegtartóztatást követően végeztük fáziskontraszt-mikroszkóppal (200–400-szoros nagyítás) és Makler-féle számlálókamrával,

állandó körülmények mellett (szobahőmérsékleten a cseppfolyósodott natív ondó 10 µl-ét felhasználva). Legalább két analízist végeztünk, és az eredmények átlagát vettük figyelembe. Az adatgyűjtést és -értékelést a WHO emberi ondó vizsgálatára és feldolgozására vonatkozó laboratóriumi kézikönyve ötödik kiadásának (2010) normái alapján végeztük.

A spermiumok funkcionális értékelését a kereskedelmi forgalomban elérhető HBA[®] tesztekkel (Biocoat Inc., Horsham, PA, USA) végeztük. A tesztet a gyártó ajánlásai szerint végeztük el. Röviden összefoglalva a vizsgálat a következőkből állt: 7–10 µl natív ondót cseppentettünk hyaluronsavval bevont speciális tárgylemez felszínére, végül 10-15 percnyi, szobahőmérsékleten történő inkubálás után meghatároztuk a spermiumok kötődési arányát (4. ábra).

Az eddig használt paramétereket (spermiumsűrűség, motilitás, morfológia) és a HBA[®] teszt eredményeit kombinálva gyakorlati szempontból hasznosnak találtuk, hogy ezeket az adatokat egy mutatóba rendezzük össze. Ezt a mutatót HB-MaSC-nek (hialuronánhoz kötődő érett spermiumok száma) nevezzük, amely az egy ml ondóban található spermiumok számának, a progresszíven mozgó spermiumok százalékos arányának és a hyaluronsavhoz kötődő, mozgó spermiumok percentilisének szorzatát adja meg. A progresszivitást (PR) a WHO kézikönyvének (2010) kritériumai szerint határoztuk meg 10^6 / ml mértékegységben [115].

$$\text{HB – MaSC} = \text{Spermiumok száma (} 10^6 \text{ /ml)} \times \text{WHO – PR (\%)} \times \text{HBA}^{\text{®}} \text{ pontszám (\%)}$$

Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) fertilis férfiakra vonatkozó referenciaértékei és a HBA-val kapcsolatos korábbi tanulmányok szerint a HB-MaSC alsó referenciahatára $5,6 \times 10^6$ /ml (a WHO értékeinek használata a „10 centilisekhez” tartozik).

A statisztikai tesztek a STATISTICA for Windows (StatSoft Hungary Ltd., Budapest, Hungary) használatával végeztük. T-teszteket, Mann–Whitney-tesztet és khi-négyzet-próbát alkalmaztunk az elemzésben.

A másik vizsgálatunkban a hialuronánhoz kötődő érett spermiumok számának (HB-MaSC) korrelációját vizsgáltuk a testtömegindexszel (BMI). A vizsgálatban 72 olyan férfi vett részt, akiket andrológiai kivizsgálásra utaltak 12 hónapnál hosszabb ideje tartó, meddő párkapcsolat miatt. A vizsgált páciensek életkora 24–43 év közötti (átlagos életkor: 33,9) volt. Minden betegnél elvégeztük a BMI kiszámítását, a herék fizikális és ultrahangos vizsgálatát, az ondó mikroszkópos analízisét és a HA-kötő képesség vizsgálatát. Kiszámítottuk a hialuronánhoz kötődő érett spermiumok számát (HB-MaSC) is [116].

A gyógyszeresen vagy sebészileg kezelhető rendellenességek a kizárási kritériumok részét képezték. Kizártuk azokat a betegeket is, akiknél klinikai jelentőséggel bíró varicokele, 25 cm³-nél kisebb heretérfog, illetve egyéb ismert egészségügyi tényező, például súlyos hormonális eltérés vagy rendszeres dohányzás állt fenn. Kizártuk továbbá a teratozoospermiát mutató betegeket is, akiknél a normális spermiummorfológia 4% alatti volt, Krüger szigorú kritériumai alapján [115].

3.1. Testtömegindex

Habár nem a valódi testzsírszázalékot tükrözi, a BMI-t elfogadják és széleskörűen alkalmazzák az ideális testtömeg és az attól való eltérés mértékének megállapítására klinikai kutatásokban csakúgy, mint az orvosi, ezáltal pedig az andrológiai gyakorlatban. A BMI-t a kilogrammban kifejezett testtömeg és a méterben kifejezett testmagasság négyzetének hányadosa határozza meg (kg/m²), így a BMI mérése költséghatékony és könnyen kivitelezhető (1. Táblázat) [117]. Az antropometriai adatokhoz, melyekből kiszámoltuk a BMI-t, a magasságot és a testtömeget magasságmérővel, illetve mérleggel mértük. Súlymérésnél és magasságmérésnél is az alanyok könnyű ruházatot viseltek cipő nélkül.

	Egység kg/m²	Betegség kockázat
Alultáplált	≤19,9	Emelkedett betegségkockázat
Normális	20–24,9	Normális
Túlsúlyos	25–29,9	Emelkedett betegségkockázat
I. fokú elhízás	30–34,9	Magas betegségkockázat
II. fokú elhízás	35–39,9	Nagyon magas betegségkockázat
III. fokú elhízás	≥40	Rendkívül magas betegségkockázat

1. Táblázat

A testtömegindex és a betegségkockázat közötti korreláció

A vizsgálatba bevont 72 infertilis férfi antropometriai adatait a 2. Táblázat mutatja be.

	Átlag	Tartomány
Életkor (év)	33,85	24–43
Testtömeg (kg)	90,43	60–135
Magasság (m)	1,80	1,61–2,00
BMI (kg/m ²)	27,94	19,15–49,22

2. Táblázat

A vizsgálatba bevont 72 férfi antropometriai adatai.

3.2. Ondóvizsgálat

Minden ondóminta levételére egy, a laboratórium közelében lévő privát helyiségben került sor, négynapos önmegtartóztatást követően, maszturbációval és egy tiszta műanyag tartályba történő ejakulálással, a WHO irányelveinek megfelelően [115]. A friss, kezeletlen minták cseppfolyósodását követően először a HBA-tesztet végeztük el a gyártó utasításait követve. Az ondóminták spermatológiai vizsgálatait, mint a spermiumszám, a motilitás, a morfológia, a vitalitás, stb. meghatározását a „WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen 5th edition” [115] utasításait pontosan betartva, azokat lépésről lépésre követve végeztük el, világos látóterű mikroszkópot (200-400-szoros nagyítás) és Makler-féle számlálókamrát használva, változatlan körülmények mellett (szobahőmérsékleten a cseppfolyósodott natív ondó 10 µl-es cseppjét felhasználva). Az eljárások alatt standard szobahőmérsékletet biztosítottunk, és mivel az ondóminták azonnal értékelésre kerültek, nem volt szükség a tárolásukra.

Az adatok gyűjtését és értelmezését szintén az ondóvizsgálatra vonatkozó WHO-kézikönyv előírásai szerint végeztük. A spermiumok mozgására vonatkozó kategóriák a következők voltak: progresszív motilitás (PR), ha a spermium aktívan mozog akár egyenesen, akár nagy ívű kört leírva, a sebességtől függetlenül; nem progresszív motilitás (NP), ha a spermium előrehaladás nélkül mozog; és immotilitás (IM), amely mozdulatlanságot jelent.

3.3. Hialuronsav-kötési assay (HBA[®])

A spermiumminőség funkcionális értékelését a kereskedelmi forgalomban kapható HBA[®]-teszttel végeztük (Biocoat Inc., USA). A tesztet a gyártó ajánlásai szerint végeztük el, 7–10 µl natív ondót cseppentetve a hialuronsavval bevont tárgylemezre, és 10-15 percnyi, szobahőmérsékleten történő inkubálás után meghatározva a spermiumok kötődési arányát.

3.4. Hialuronánhoz kötődő érett spermiumok száma (HB-MaSC)

A klasszikus spermiumparaméterek (spermiumsűrűség, motilitás, morfológia) és a HBA[®]-teszt eredményeinek kombinálásával a szerzők korábban leírtak egy új, a hialuronánhoz kötődő érett spermiumok száma” elnevezésű fertilitási mutatót, amely az egy ml ondóban található spermiumok számának, a progresszíven mozgó spermiumok százalékos arányának és a hialuronsavhoz kötődő, mozgó spermiumok percentilisének szorzatát adja meg [116], és amelyet a rendelkezésre álló adatokból kiszámítottunk.

3.5. Statisztikai elemzés

A BMI, illetve a HB-MaSC, a spermiumszám és a progresszív motilitás (WHO-PR, mely a WHO irányelveinek megfelelően mért értéket jelzi) eredményei közötti kapcsolatokat a testtömegre és az életkorra korrigált többszörös lineáris regressziót alkalmazva értékeltük. A változókat a normalitás növelése érdekében transzformáltuk: a HB-MaSC-nél és a spermiumszámnál négyzetgyök-transzformációt, a WHO-PR-nél négyzetes transzformációt, a BMI-nél természetes alapú logaritmikus transzformációt alkalmaztunk. A modell a log-BMI első, második és harmadik hatványon szereplő variánsait, illetve a testtömeg első és második hatványú variánsait tartalmazta, hogy lehetővé tegye görbületek jelenlétét az összefüggésben. A hatásokat marginális hatásokként fejeztük ki egységnyi növekedésre a BMI-tartomány referenciapontjaira specifikusan, 95%-os konfidencia-intervallumokkal és p-értékekkel.

A modellilleszkedéseket Breusch-Pagan/Cook–Weisberg-tesztekkel ellenőriztük heteroszkedaszticitásra, Ramsey-féle tesztel a regresszió specifikációs hibájára, illetve elvégeztük a maradékok és a maradékok-illesztett értékek görbék normalitásának vizsgálatát. A „Stata” statisztikai csomagot használtuk az adatok kezelésére és elemzésére. A 0,05-nél kisebb p-értékeket tekintettük a szignifikancia indikátorának. A követett eljárások összhangban voltak a humán kísérletekért felelős (intézményi) bizottság etikai normáival.

4. Eredmények

4.1. HBA-pontszám és HB-MaSC klinikailag infertilis férfiaknál

Kísérleteink azt tárták fel, hogy az andrológiai vizsgálatok 59,75%-ában (159-ből 95-ben) a betegeknél normozoospermiát találtunk, de a HBA% és a HB-MaSC-index értékei alacsonyabbak a publikált referencia értékeknél, ami kiemeli a jelen továbbfejlesztett módszer használatának fontosságát. A WHO ondóvizsgálatra vonatkozó kézikönyve (5. kiadás, 2010) alapján azokat tekintettük normozoospermiásnak, akiknél az ondótérfogat 1,5 ml fölött, a teljes spermiumszám 39×10^6 / ml fölött, a spermiumsűrűség legalább 15×10^6 / ml, a teljes motilitás több mint 40% és a progresszív motilitás több mint 32% volt. Az alábbi eredmények alapján a HB-MaSC a spermiumminőség változásainak érzékeny indikátora, és a mozgó spermiumok arányát is tükrözi.

4.2. A spermiumparaméterek, a HBA-pontszám és a HB-MaSC változásai kiegészítő kezelés után

Az átlagos spermiumsűrűség $36,55 \pm 1,82$ (átlag $\pm$ SEM – Standard Error of Mean, az átlag standard hibája) volt a kezeletlen csoportban ($N = 136$). A kezelt csoportban ($N = 39$), az első vizsgálatban az átlagos spermiumsűrűség (10^6 /ml) $24,95 \pm 2,91$ volt (átlag $\pm$ SEM) a kiegészítők szedésének elkezdése előtt, és a terápia után ez szignifikánsan $35,68 \pm 4,32$ -ra (átlag $\pm$ SEM) emelkedett ($p = 0,00805$) (3. Táblázat, 5. ábra).

A kezelt csoportban, az első vizsgálatban az átlagos HBA-arány (%) $38,71 \pm 3,12$ (átlag $\pm$ SEM) volt, és a kiegészítő terápia után ez $49,95 \pm 2,99$ -ra (átlag $\pm$ SEM) emelkedett. Statisztikailag szignifikáns emelkedést észleltünk a HBA-arányban ($p = 0,000004$) (3. Táblázat, 6. ábra).

A számított HB-MaSC-érték (10^6 /ml) $5,38 \pm 0,86$ (átlag $\pm$ SEM) volt az első vizsgálatban, és $11,47 \pm 1,93$ volt a kezelés után. Ebben az esetben is statisztikailag szignifikáns növekedést figyeltünk meg ($p = 0,000015$) (3. Táblázat).

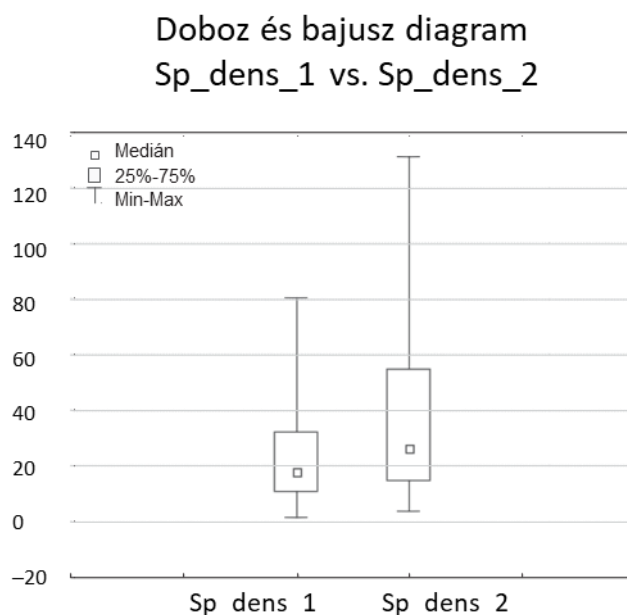
A kezelt betegeket telefonon is nyomon követtük 1,5-2 évvel a terápia után. 11 kezelt beteg (28,21%) partnere szült egészséges gyermeket asszisztált reprodukciós módszerek nélkül. További hét partner (17,95%) szült asszisztált reprodukciós technikák segítségével (intrauterin

inszemináció vagy intracitoplazmatikus spermiuminjekció). A kiegészítő kezelés következményeképpen tehát a korábban terméketlennek nyilvánított párok 46,15%-ánál született gyermek.

	Spermium-sűrűség ($10^6 / \text{ml}^{-1}$)	HBA-arány (%)	Számított HB-MaSC ($10^6 / \text{ml}^{-1}$)
Kezelés előtt	$24,95 \pm 2,91$	$38,71 \pm 3,12$	$5,38 \pm 0,86$
Kezelés után	$35,68 \pm 4,32$	$49,95 \pm 2,99$	$11,47 \pm 1,93$

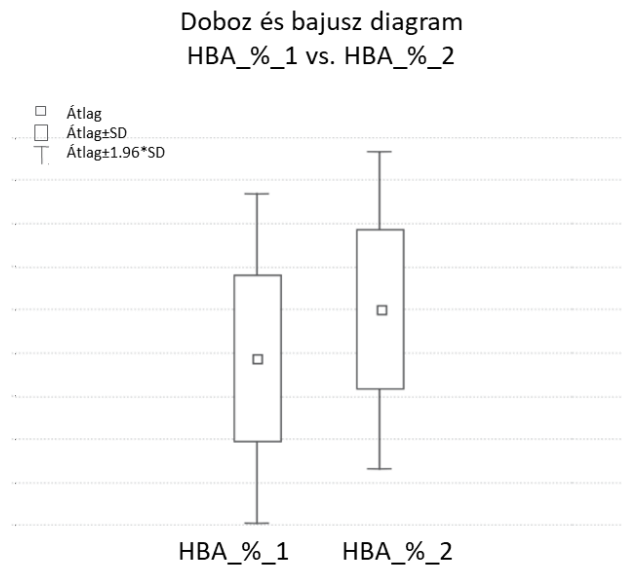
3. Táblázat

A kiegészítő terápiával kezelt csoport eredményei (N=39); az eredmények átlag $\pm$ SEM formában láthatók



5. ábra:

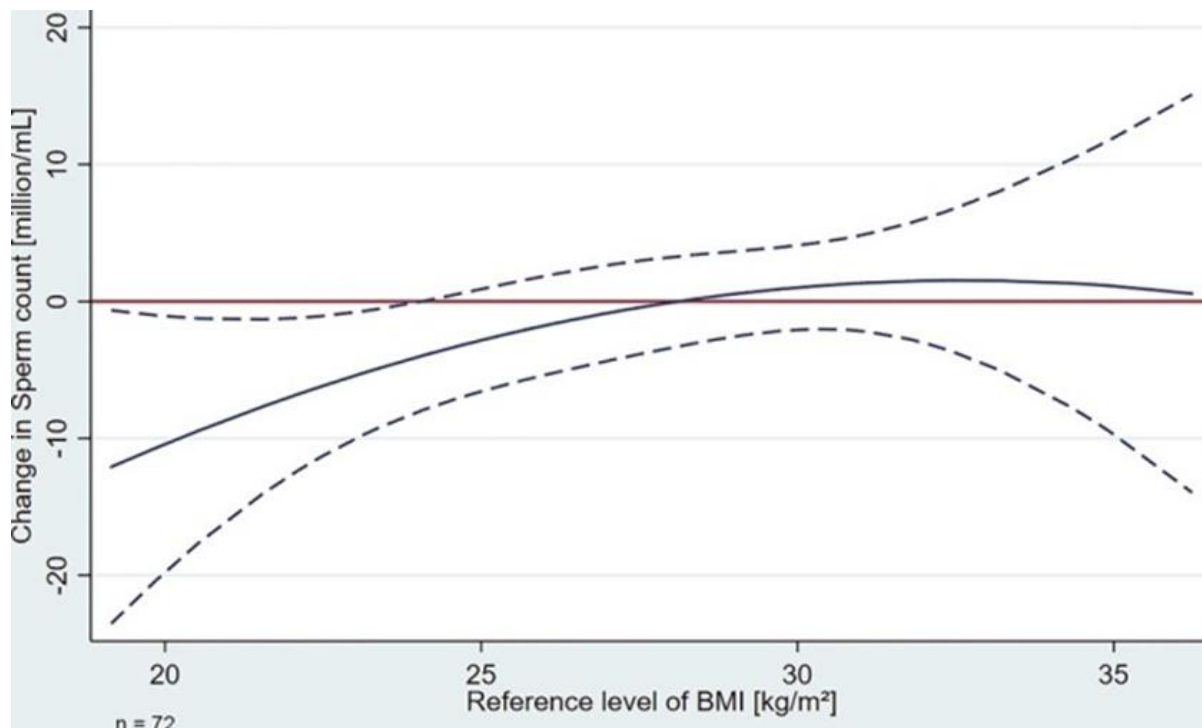
*Spermiumsűrűség a kiegészítő terápia előtt (Sp_dens_1) és után (Sp_dens_2) ($10^6/\text{ml}$).
(box and whisker plot)*



6. ábra:
A HA-kötés (HBA %) változása a kiegészítő terápia után (HBA_%_1:
a terápia előtt; HBA_%_2: a terápia után).
(box and whisker plot)

4.3. Hialuronánhoz kötődő érett spermiumok számának (HB-MaSC) korrelációja a testtömegindexszel (BMI)

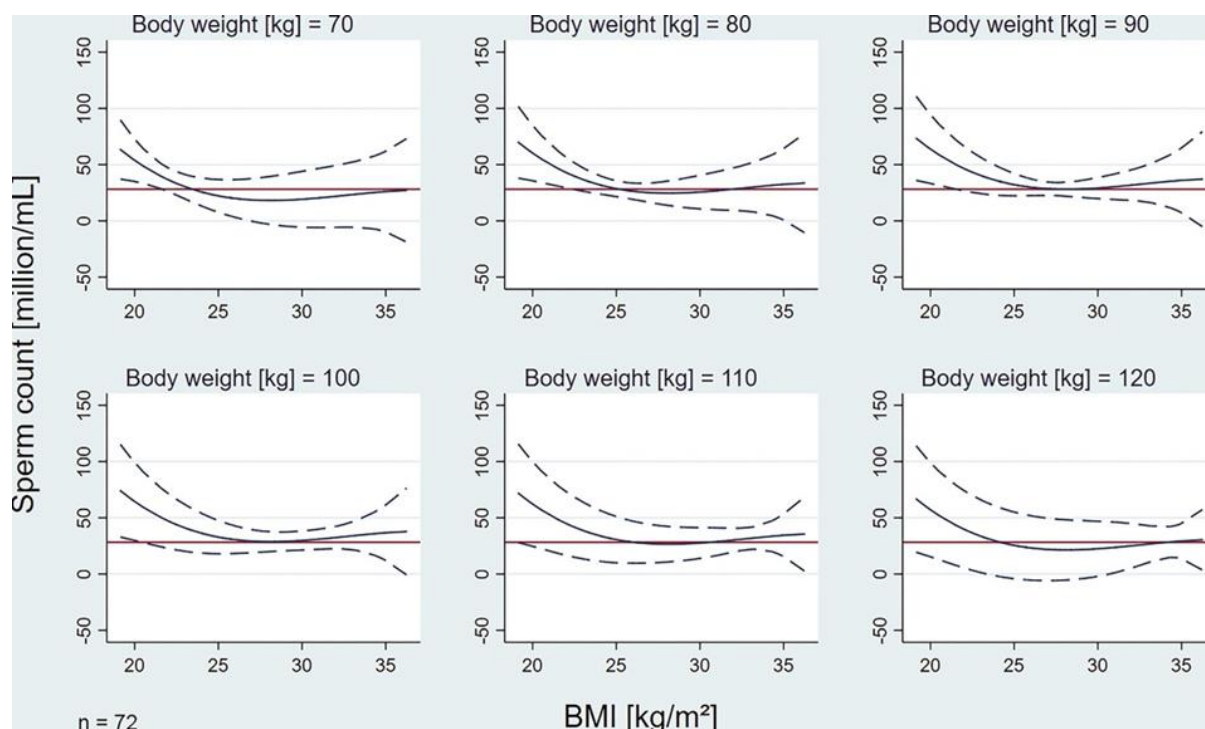
A második vizsgálatban, a hialuronánhoz kötődő érett spermiumok számának (HB-MaSC) és a BMI korrelációjának vizsgálatakor a spermiumszám életkorra és a testtömegre korrigált, regresszióval illesztett értékeit a legmagasabbaknak a normális BMI-tartomány alsó végénél találtuk. A spermiumszám értékei szignifikánsan csökkentek a BMI növekedésével 25 kg/m²-ig, de ezen BMI-érték fölött figyelemre méltó változásokat nem azonosítottunk, mivel a spermiumszám nem szignifikáns mértékben változott egy konstans módon alacsony, 30 millió/ml-es szint körül (7. és 8. ábra). Ez azt jelzi, hogy a túlsúlyostól az elhízott tartományig terjedő BMI alacsonyabb spermiumszámmal társul a normális BMI-tartomány közepéhez közeli alanyokéhoz képest. Az összefüggés a 90 kg körüli testtömegig terjedően a legmegalapozottabb, de az ennél nehezebb alanyoknál, akik a mintánkban általánosan a normális BMI-tartományon kívül estek, már nem teljesül (8. ábra).



7. ábra: A testtömegindex (BMI) egységnyi növekedésének marginális hatása a spermiumszám változásának várható értékére.

A BMI és a spermiumszám változásának összefüggéseit a testtömegre és az életkorra korrigált többszörös lineáris regresszió alkalmazásával értékeltük. A spermiumszám-változás szignifikánsan negatív értékei láthatók az alacsonyabb BMI-értékeknél. ($n = 72$)

A „Stata” statisztikai szoftverben a modellt, az illeszkedéseket Breusch–Pagan/Cook–Weisberg-tesztekkel ellenőriztük heteroszkedaszticitásra, Ramsey-féle teszttel a regresszió specifikációs hibájára, illetve elvégeztük a maradékok és a maradékok–illesztett értékek görbék normalitásának vizsgálatát. A görbék 95%-os konfidencia-intervallummal (szaggatott vonalak) határozzák meg a marginális hatás pontbecslését (folytonos vonal) a BMI vízszintes tengelyen olvasott referenciaszintjein. A becslések (folytonos vonal) szignifikánsan ($p < 0,05$) eltérnek minden értéktől, amely a 95%-os konfidencia-intervallumon (a két szaggatott vonal közötti terület) kívül esik.

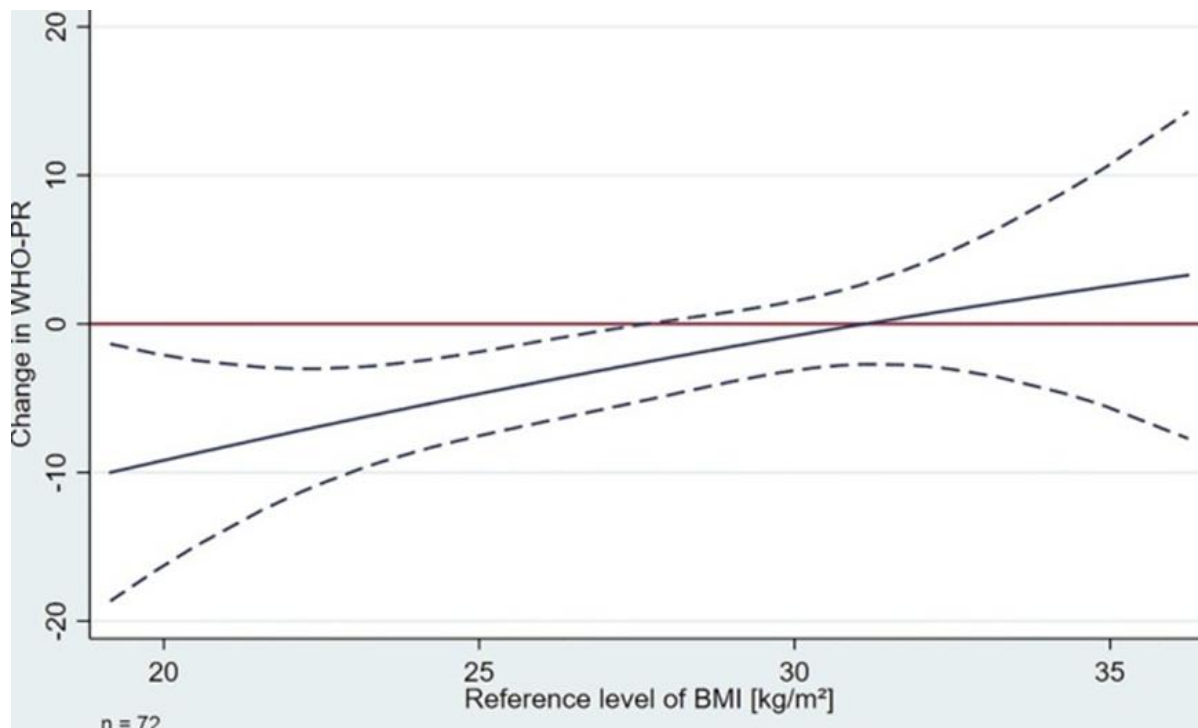


8. ábra: A testtömegindex (BMI) és a spermiumszám várható értéke közötti kapcsolat.

A BMI és a spermiumszám összefüggéseit a testtömegre és az életkorra korrigált többszörös lineáris regresszió alkalmazásával értékeltük. Kisebb testtömegeknél van néhány alacsony BMI-érték, ahol a spermiumszám szignifikánsan eltér pozitív irányban a mintaátlagtól (vízszintes vonal), azonban magasabb BMI-értékeknél a spermiumszám értékei nem érik el a fiziológias szintet, és megállapodnak az alacsony mintaátlag körül a testtömegtől függetlenül. ($n = 72$)

A „Stata” statisztikai szoftverben a modellilleszkedéseket Breusch–Pagan/Cook–Weisberg-tesztekkel ellenőriztük heteroszkedaszticitásra, Ramsey-féle teszttel a regresszió specifikációs hibájára, illetve elvégeztük a maradékok és a maradékok-illesztett értékek görbék normalitásának vizsgálatát. A görbék 95%-os konfidencia-intervallummal (szaggatott vonalak) határozzák meg az illesztett értékeket (folytonos vonal) az életkor mintaátlagán, különböző testtömegszinteken, amelyeket minden képzetét fölött feltüntettünk; a vízszintes vonal az illesztett értéket jelöli az összes magyarázó változó mintaátlagán. Az illesztett értékek (folytonos vonal) szignifikánsan ($p < 0,05$) eltérnek minden értéktől, amely a 95%-os konfidencia-intervallumon (a két szaggatott vonal közötti terület) kívül esik.

Hasonló tendenciákat észleltünk a progresszíven mozgó spermiumok arányában (WHO-PR) [115], amely szignifikánsan csökkent a BMI emelkedésével a normálistól a túlsúlyosig terjedő BMI-tartományban (9. ábra), mielőtt kiegyenlített szintre ért az elhízott alanyokban. Az életkorra és a BMI-re korrigálva, a 70-90 kg-os tartományban a nagyobb testtömeg növelő hatással volt a WHO-PR-re, 17,7 becsült százalékponttal ($p < 0.0001$) az azonos életkorú és BMI-vel rendelkező 80 kg-os alanyoknál a 70 kg-osokhoz képest, illetve 11,3 százalékponttal ($p = 0.0003$) az azonos életkorú és BMI-jű 90 kg-os alanyoknál a 80-kg-osokhoz képest (10. ábra). A WHO-PR-en kívül más eredménynél nem volt megfigyelhető szignifikáns összefüggés a testtömeggel.

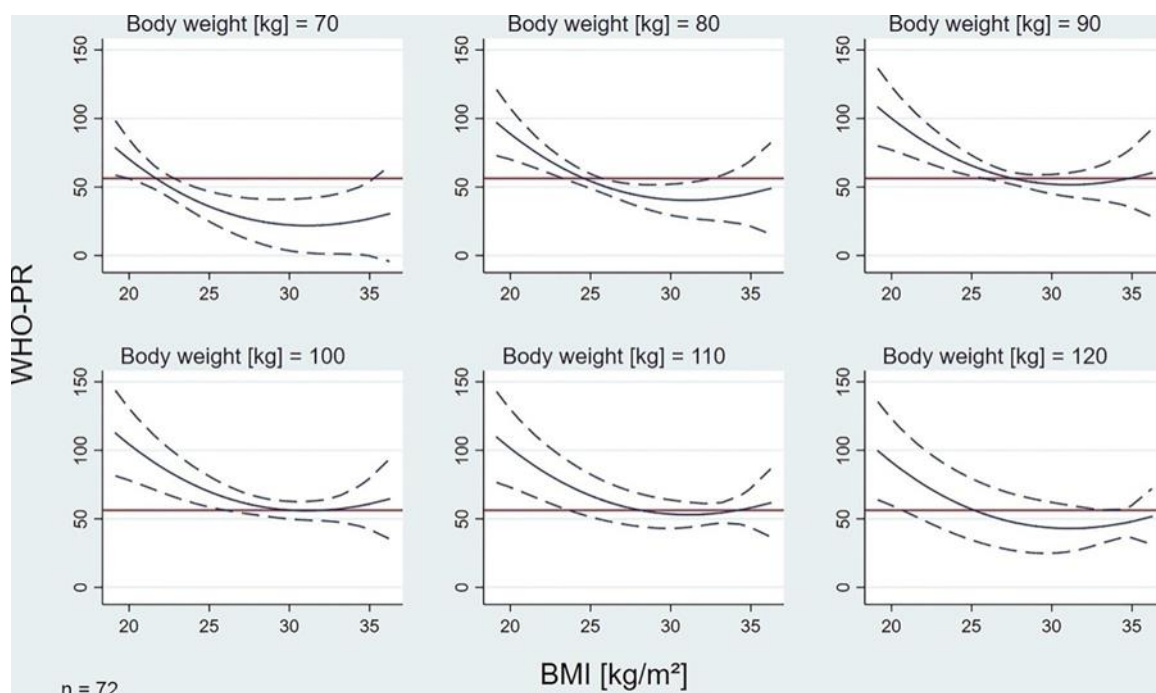


9. ábra: A testtömegindex (BMI) egységnyi növekedésének marginális hatása a progresszív motilitás (a WHO irányelveinek megfelelően mérve) (WHO-PR) változásának várható értékére.

10.

A BMI és a WHO-PR változásának összefüggéseit a testtömegre és az életkorra korrigált többszörös lineáris regresszió alkalmazásával értékeltük. A WHO-PR változásának szignifikánsan negatív értékei láthatók az alacsonyabb BMI-értékeknél. ($n = 72$)

A „Stata” statisztikai szoftverben a modellilleszkedéseket Breusch–Pagan/Cook–Weisberg-tesztekkel ellenőriztük heteroszkedaszticitásra, Ramsey-féle teszttel a regresszió specifikációs hibájára, illetve elvégeztük a maradékok és a maradékok–illesztett értékek görbék normalitásának vizsgálatát. A görbék 95%-os konfidencia-intervallummal (szaggatott vonalak) határozzák meg a marginális hatás pontbecslését (folytonos vonal) a BMI vízszintes tengelyen olvasott referenciaszintjein. A becslések (folytonos vonal) szignifikánsan ($p < 0,05$) eltérnek minden értéktől, amely a 95%-os konfidencia-intervallumon (a két szaggatott vonal közötti terület) kívül esik.



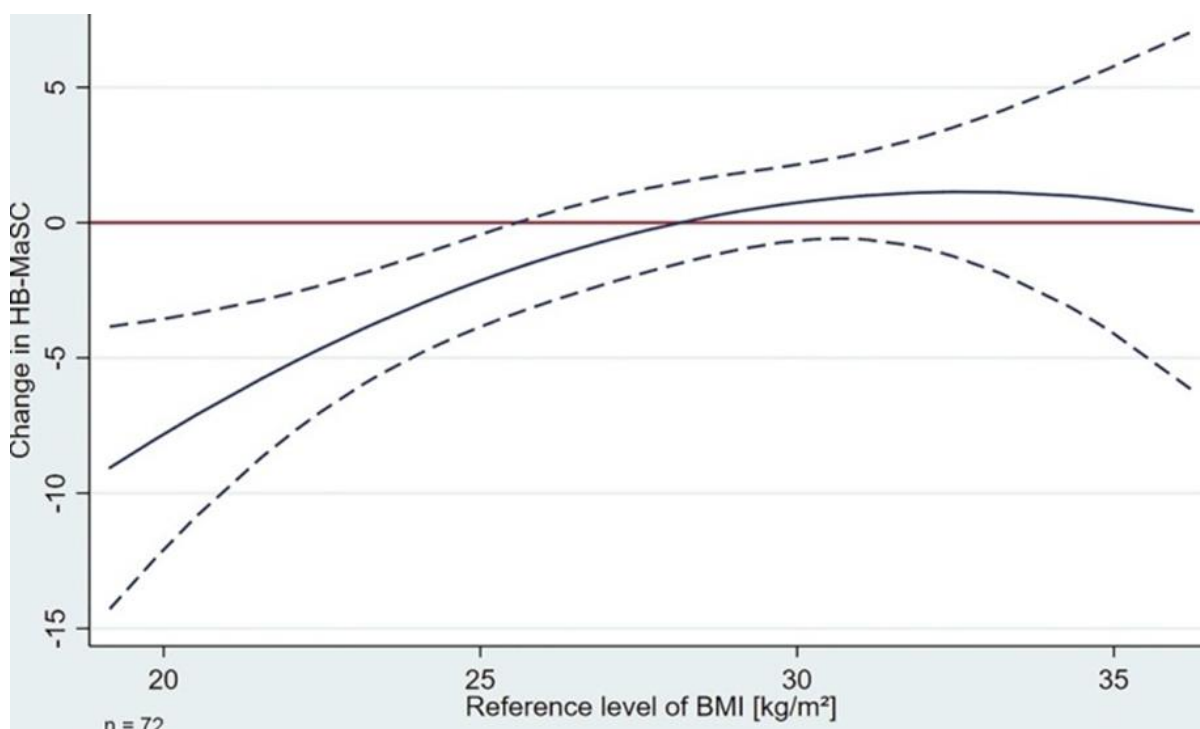
11. ábra: A testtömegindex (BMI) és a progresszív motilitás (a WHO irányelveinek megfelelően mérve) (WHO-PR) várható értéke közötti kapcsolat.

A BMI és a WHO-PR összefüggéseit a testtömegre és az életkorra korrigált többszörös lineáris regresszió alkalmazásával értékeltük. Alacsony BMI-értékeknél (a testtömegtől függetlenül) a WHO-PR értékei magasabbak lehetnek a mintaátlagnál, azonban a BMI emelkedésével a WHO-PR értékei alacsonyabbnak mutatkoznak, és általánosságban nem térnek el szignifikánsan az alacsony mintaátlagtól. Viszont például 80 kg-os testtömegnél és 28–30 kg/m² BMI-nél a WHO-PR értékei szignifikánsan negatív irányban térnek el a mintaátlagtól. ($n = 72$)

A „Stata” statisztikai szoftverben a modellilleszkedéseket Breusch–Pagan/Cook–Weisberg-tesztekkel ellenőriztük heteroszkedaszticitásra, Ramsey-féle teszttel a regresszió specifikációs hibájára, illetve elvégeztük a maradékok és a maradékok-illesztett értékek görbék normalitásának vizsgálatát. A görbék 95%-os konfidencia-intervallummal (szaggatott vonalak) határozzák meg az illesztett értékeket (folytonos vonal) az életkor mintaátlagán, különböző testtömegszinteken, amelyeket minden képzetét fölött feltüntettünk; a vízszintes vonal az illesztett értéket jelöli az összes magyarázó változó mintaátlagán. Az illesztett értékek (folytonos vonal) szignifikánsan ($p < 0,05$) eltérnek minden értéktől, amely a 95%-os konfidencia-intervallumon (a két szaggatott vonal közötti terület) kívül esik.

Az életkorra és a testtömegre korrigált összefüggés a BMI + a HB-MaSC változása között (11. ábra) hasonló tulajdonságokat mutat, mint a BMI + spermiumszám-változás lineáris regressziós elemzése. A HB-MaSC értékei magasabbnak bizonyultak alacsonyabb BMI-értékeknél, és egyenletesen csökkentek 25 kg/m² BMI-ig. Ez a csökkenés még meredekebb volt, mint amit a spermiumszámnál láttunk, ami azt sugallja, hogy a BMI + HB-MaSC összefüggés érzékenyebben szemlélteti a BMI hatását. 25 kg/m² BMI fölött nem láttunk további csökkenést

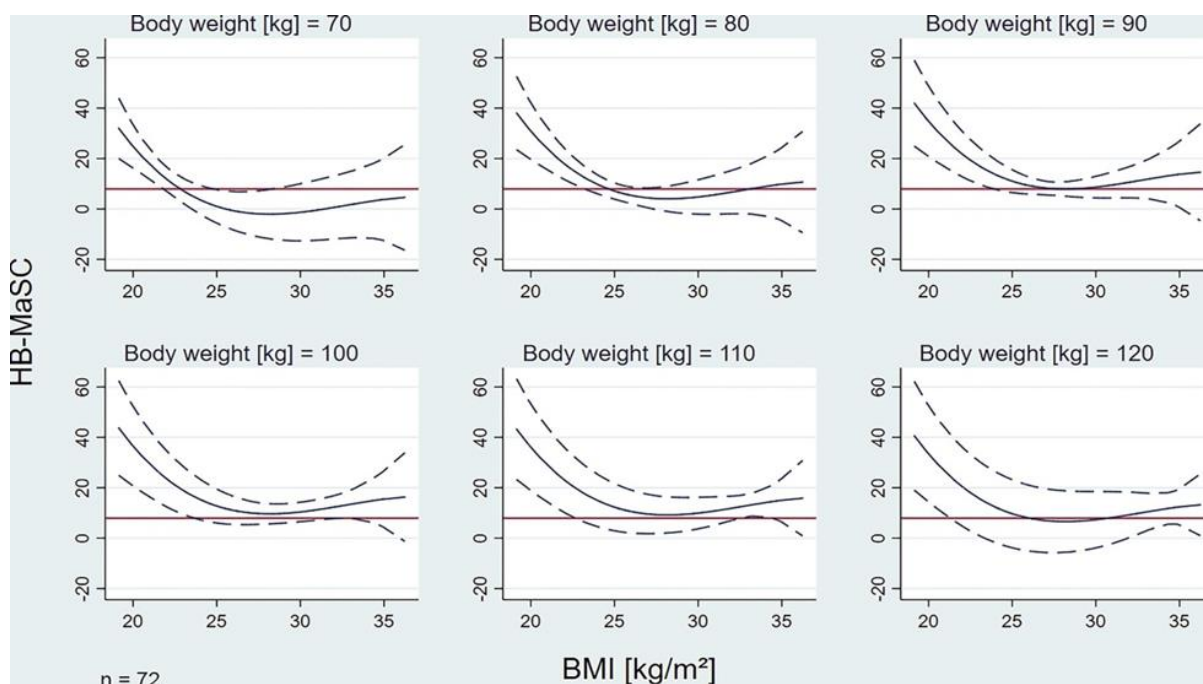
a HB-MaSC-indexben, amely alacsony szinten maradt, ami jellemzőnek bizonyult a túlsúlyostól az elhízottig terjedő BMI-tartományra. Úgy tűnik, a testtömeg nincs olyan szoros kapcsolatban e mutató változásaival, mint a BMI. Bár a 70–100 kg-os tartományban a nagyobb testtömeg mutatott valamelyes tendenciát arra, hogy növelő hatást fejtsen ki a HB-MaSC-re, azonban ez statisztikailag nem bizonyult szignifikánsnak. A BMI és HB-MaSC közötti összefüggés 100 kg körüli testtömegig a legmegalapozottabb (12. ábra).



12. ábra: A testtömegindex (BMI) egységnyi növekedésének marginális hatása a hialuronánhoz kötődő érett spermiumok száma (HB-MaSC) változásának várható értékére.

A BMI és a HB-MaSC változásának összefüggéseit a testtömegre és az életkorra korrigált többszörös lineáris regresszió alkalmazásával értékeltük. A HB-MaSC változásának szignifikánsan negatív értékei láthatók az alacsonyabb BMI-értékeknél. ($n = 72$)

A „Stata” statisztikai szoftverben a modellilleszkedéseket Breusch–Pagan/Cook–Weisberg-tesztekkel ellenőriztük heteroszkedaszticitásra, Ramsey-féle teszttel a regresszió specifikációs hibájára, illetve elvégeztük a maradékok és a maradékok–illetett értékek görbék normalitásának vizsgálatát. A görbék 95%-os konfidencia-intervallummal (szaggatott vonalak) határozzák meg a marginális hatás pontbecslését (folytonos vonal) a BMI vízszintes tengelyen olvasott referenciaszintjein. A becslések (folytonos vonal) szignifikánsan ($p < 0,05$) eltérnek minden értéktől, amely a 95%-os konfidencia-intervallumon (a két szaggatott vonal közötti terület) kívül esik.



13. ábra: A testtömegindex (BMI) és a hialuronánhoz kötődő érett spermiumok számának (HB-MaSC) várható értéke közötti kapcsolat.

A BMI és a HB-MaSC összefüggéseit a testtömegre és az életkorra korrigált többszörös lineáris regresszió alkalmazásával értékeltük. Alacsony BMI-értékeknél (a testtömegtől függetlenül) a HB-MaSC értékei magasabbak lehetnek a mintaátlagnál, azonban a BMI emelkedésével a HB-MaSC értékei alacsonyabbnak mutatkoznak, és a testtömegtől függetlenül nem térnek el szignifikánsan az alacsony mintaátlagtól. ($n = 72$)

A „Stata” statisztikai szoftverben a modellilleszkedéseket Breusch–Pagan/Cook–Weisberg-tesztekkel ellenőriztük heteroszkedaszticitásra, Ramsey-féle teszttel a regresszió specifikációs hibájára, illetve elvégeztük a maradékok és a maradékok–illesztett értékek görbék normalitásának vizsgálatát. A görbék 95%-os konfidencia-intervallummal (szaggatott vonalak) határozzák meg az illesztett értékeket (folytonos vonal) az életkor mintaátlagán, különböző testtömegszinteken, amelyeket minden képzetét fölött feltüntettünk; a vízszintes vonal az illesztett értéket jelöli az összes magyarázó változó mintaátlagán. Az illesztett értékek (folytonos vonal) szignifikánsan ($p < 0,05$) eltérnek minden értéktől, amely a 95%-os konfidencia-intervallumon (a két szaggatott vonal közötti terület) kívül esik.

A modellilleszkedést minden esetben megfelelőnek találtuk, elfogadható mértékű, kisebb eltérésekkel a maradékok normalitásától a HB-MaSC-, a spermiumszám- és a WHO-PR-modelleknél; egyéb modellellenőrző módszerekkel nem találtuk gyenge illeszkedés bizonyítékát semmilyen kimenetelre.

5. Megbeszélés

Korábban bebizonyosodott, hogy a morfológián alapuló, egyszerű spermatológiai vizsgálatok nem elégségesek az asszisztált reprodukív technikák új követelményeinek kielégítésére. Következésképpen napjainkban egyre inkább megkérdőjeleződött a konvencionális spermatológiai vizsgálatok értéke a termékenységi állapot megítélésében [118].

A hyaluronsav-kötési assay (HBA[®]) az egyik újonnan bevezetett vizsgálat, amely lehetővé teszi a spermiumok funkcionális vizsgálatát. A HBA[®]-teszt elméleti alapja az, hogy csak az érett, aneuploiditást és DNS-fragmentációt csak kis gyakorisággal mutató spermiumok expresszálnak hyaluronsav kötő receptorokat (HBR), és csak ezek tudnak a cumulus-sejtek hyaluronsavat (HA, más néven hialuronán) tartalmazó poliszacharid mátrixához kapcsolódni [101,119,120]. Ennélfogva, csak az érett spermiumok képesek in vitro a hyaluronsavval kezelt felszínhez kapcsolódni a HBA-tesztekben – mint in vivo a zona pellucidához –, ami lehetővé teszi az érett és az éretlen sejtek megkülönböztetését [97,99].

A spermiumok érettsége, az alacsony aneuploiditási és DNS-fragmentációs arány, a kromatin megnövekedett integritása, a normális fejmorfológia és következésképpen a jobb megtermékenyítő-képesség mind korrelál a hyaluronsav-kötési képességgel [91,101]. A HA-alapú spermiumszelekció növeli a beágyazódási rátát, és csökkenti az ICSI-t követő korai vetélések arányát, kiváltképp a spermiumok csökkent HA-kötő képessége esetén [105]. A hyaluronsav-kötési assay hasznos továbbá oligozoospermianál is, mivel segítséget nyújt a későbbi IVF technikák közötti választásban.

Eredményeink alapján meg vagyunk győződve arról, hogy a HBA-analízis és az abból származtatott mutató (HB-MaSC) egy objektív, standardizálható teszt, amely a megtermékenyítő-képesség egy jobb megközelítését nyújtja, mivel tükrözi a mozgó spermiumok arányát is. Úgy gondoljuk, ez a továbbfejlesztett paraméter az, ami megadja a funkcionáló, érett spermiumoknak ondómintában lévő valódi számát. A HBA-analízis fontos diagnosztikai eszköz lehet normozoospermia mellett jelentkező infertilitás esetében is. Ez a vizsgálat lehetővé teszi, hogy a morfológiai assay-vel korábban tévesen normálisnak ítélt abnormális mintákat felismerjük, és sokkal mérhetőbbé teszi a terápia hatékonyságát is. Mindemellett a vizsgálat segítséget nyújt az infertilitás területén dolgozó szakembereknek az inszemináció és az IVF/ICSI közötti választásban, hogy a legjobb eséllyel ériék el a sikeres

reprodukción. A szerzők úgy vélik, hogy a HB-MaSC-index alkalmazása pontosabban írhatja le a férfiak megtermékenyítő-képességét, mint a korábban használt klasszikus paraméterek, és ez egy potenciálisan hasznos eszköz az andrológus kezében a mindennapi andrológiai gyakorlatban és az asszisztált reprodukív technikákat megelőzően. Ugyanezen tanulmányunk azt is kimutatta, hogy a taurint, magnéziumot, karnitint, arginint, C-vitamint, E-vitamint, Q10-koenzimet, cinket, béta-karotint, B6-vitamint, folsavat, szelént, B12-vitamint és D3-vitamint tartalmazó komplex étrend-kiegészítők előnyösek lehetnek a férfiak infertilitásának kezelésében. A vonatkozó irodalom többségének megfelelően azt tapasztaltuk, hogy a spermiumok száma és a sikeres megtermékenyítés képessége szignifikáns javulást mutatott a komplex kiegészítő terápiának köszönhetően.

Második tanulmányunk célja a BMI konvencionális ondóparaméterekre (spermiumkoncentráció és progresszív motilitás) és a hialuronán-kötésen alapuló megtermékenyítő-képességre gyakorolt hatásának vizsgálata és összehasonlítása volt.

A közelmúltban kimutatták, hogy a spermiumok funkcionális vizsgálata fontos lehet a klinikai infertilitás azonosításában [118], a BMI-nek a spermiumok funkcionális jellemzőire kifejtett hatásáról azonban kevés kísérleti adat áll rendelkezésre. Ebben a tanulmányban megvizsgáltuk és összehasonlítottuk a BMI hatását az említett konvencionális spermiumparaméterekre és a hialuronán kötésen alapuló megtermékenyítő-képességre, 72 infertilis férfi adatait testtömegre és életkorra korrigált többszörös lineáris regressziós elemzésekkel feldolgozva.

Bár igazoltak bizonyos kapcsolatot a BMI és a férfiak infertilitása között [24,25], a BMI és az ondóparaméterek között nem feltétlenül áll fenn ilyen egyértelmű összefüggés: korábbi klinikai tanulmányok ellentmondásos eredményeket közöltek a túlsúlyosság spermiumszámra kifejtett hatásáról. Nguyen és mtsai. tanulmánya szerint lehet valamilyen összefüggés a férfiak infertilitása és a BMI között, mivel az elhízott férfiaknál a normális BMI-vel rendelkezőkhöz képest az oligospermia 3,5-szeres valószínűségét figyelték meg, megerősítve ezzel a BMI negatív hatását a férfiak fertilitására [121]. Sermondade és mtsai. 21 tanulmány metaanalízisét készítették el, mely szerint a túlsúlyosság és az elhízás az azoospermia vagy az oligospermia fokozott előfordulásával társult, továbbá köztük J alakú összefüggés állt fenn [122].

Ennek ellentmond viszont, hogy számos klinikai tanulmány megkérdőjelezi a közvetlen kapcsolatot a szubfertilitás és az elhízás között. Chavarro és mtsai. például azt állapították meg, hogy megnövekedett testtömegnél a reprodukív hormonok szintjében meglévő jelentős különbségek ellenére csak a szélsőséges mértékű elhízás ($BMI \geq 35 \text{ kg/m}^2$) befolyásolta

negatívan a spermiumszámot és a mozgási paramétereket [123]. Ugyanakkor MacDonald és mtsai. sem találtak bizonyítékot az emelkedett BMI és az ondóparaméterek kapcsolatára [33].

Ezzel ellentétben saját eredményeink szerint a megnövekedett BMI (25 kg/m^2) (7. és 8. ábra) negatív hatással van a spermiumszámra, maga a testtömeg viszont nem (8. ábra). A progresszív motilitás esetében a megnövekedett BMI negatív hatását figyeltük meg a WHO-PR-re is (9. és 10. ábra). Úgy tűnik viszont, hogy a nagyobb testtömeg kevésbé kifejezett csökkentő hatással van a WHO-PR-re – ha összehasonlítjuk a 70-100 kg-os tartomány görbéit (4. ábra) –, azonban a még nagyobb testtömegeknél (100 kg fölött) a negatív hatások erősödnek (igaz, nem szignifikánsan). Habár ugyanaz a tendencia látható mind a spermiumszám és testtömeg, mind a HB-MaSC és testtömeg összefüggéseiben is, az emelkedő testtömeg szignifikánsan gyengülő hatása a WHO-PR csökkenésére izolált esetnek bizonyult: a WHO-PR-en kívül más eredménynél nem figyelhető meg szignifikáns összefüggés a testtömeggel. Megállapítottuk, hogy a BMI emelkedésének negatív hatása a spermiumok minőségére $28\text{--}30 \text{ kg/m}^2$ fölött platót ér el, mivel a spermiumkoncentráció, a mozgásképeség és a hialuronánhoz való kötődés nem csökken tovább e BMI-érték fölött.

Kísérletünkben a progresszív motilitás viszont összefüggést mutatott a BMI-vel, azonban ez a kapcsolat ellentmondásos a tudományos irodalomban, mint azt már említettük a BMI és spermiumszám esetében. Ramaraju és mtsai. egy közelmúltbeli cikkükben egy számítógéppel segített spermiumanalízis eredményeit tárgyalják, aminek végső megállapítása az, hogy az elhízás ($\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$) alacsonyabb progresszív motilitással társul [124]. Ezzel szemben Keskin és mtsai. egy hasonló vizsgálata az ilyen jellegű összefüggés igazolása nélkül zárult, ugyanakkor kimutatták, hogy a BMI negatívan korrelál a prolaktin- és a tesztoszteronszinttel [125].

A legújabb kutatások azt mutatták, hogy bár a BMI-nek van egy általános hatása az in vitro fertilizáció sikerére, az nem befolyásolja a terhességi arányt az intracitoplazmatikus spermiuminjekció ciklusaiban [126]. Az asszisztált reprodukciós technikák eredményeit illetően Thomsen és mtsai. azt állapították meg, hogy a fertilizációs rátát, a jó minőségű embriók számát, a beágyazódási arányt és a terhesség kimenetelét nem befolyásolta a férfiak BMI értéke [127]. Nem találtak továbbá semmilyen, a BMI által a konvencionális ondóparaméterekre kifejtett hatást sem.

A spermiumok funkcionális vizsgálatára ezért számos új tesztet kellett kutatásba vonni, mivel

a klasszikus spermatológiai vizsgálatok elégtelennek bizonyultak a férfiak fertilitásának megítélésében. Az elhízás férfifertilitásra gyakorolt hatását jobban megmagyarázhatjuk a BMI és a spermiumok funkcionális változói közötti összefüggés vizsgálatával, mint a konvencionális ondóparaméterekkel.

A hyaluronsav-kötési assay egy viszonylag új funkcionális teszt a spermium megtermékenyítő-képességének értékelésére [116]. Mindazonáltal korlátozott mennyiségű adat áll rendelkezésre a túlsúlyosság és a spermiumok hialuronán-kötési kapacitásának kapcsolatáról. Sermondade és mtsai. felmérték a kapcsolatot a férfiak BMI-je, a konvencionális ondóparaméterek és a zona pellucidához való kötődés képessége között, és nem találtak korrelációt [32]. Ugyanakkor Wegner és mtsai. kimutatták, hogy a dohányzás és az abnormálisan magas BMI együttesen alacsonyabb hialuronán-kötési kapacitással társul [128]. Az eredményeink szemléltették, hogy a magas BMI önmagában is hozzájárulhat a férfiak infertilitásához, hiszen az emelkedő BMI negatív hatással van a spermium hialuronán-kötési kapacitására, még akkor is, ha ez 25 kg/m^2 fölött stabilizálódni kezd egy állandó, alacsony szinten. A testtömegindex előnyös jelölt lehet a HBA-eredményekkel való összevetésre, ellentétben a testtömeggel, amelynek esetében az előbbi összefüggés kísérletünkben nem bizonyult jól megalapozottnak. Még jobb, ha a BMI-t egy, a HA-kötési eredményekkel kapcsolatos másik mutatóval vetjük össze, a HB-MaSC index-el, amelyet a szerzők vezettek be korábban [116] a konvencionális és a funkcionális spermiumparaméterek kombinált értelmezéseként, mely jelentősen javíthatja a klinikai felhasználást. Ez az újonnan leírt fertilitási mutató figyelembe veszi a spermiumsűrűséget, a progresszív motilitást és a HA-kötési képességet, hiszen az elegendő számú mozgó spermium előfeltétele a HA-kötésnek. E paraméter használatával a jelen tanulmányban azt mutattuk ki, hogy a testtömeg figyelmen kívül hagyása után a megnövekedett BMI hatása a spermiumok minőségére még kifejezettebb, ha a HB-MaSC-t vesszük figyelembe.

Az elhízás spermatogenezisre és a here működésére gyakorolt negatív hatásának háttérmechanizmusait számos kutató vizsgálta. A spermiumokra ható fokozott oxidatív stressz [17,26], a hormonok vagy a velük kapcsolatos fehérjék (tesztoszteron, ösztrogén, leptin, SHBG, aromatáz enzim) megváltozott koncentrációján [123,129-133], molekuláris folyamatok (például metiláció, acetiláció, illetve változások az RNS és a kis nem-kódoló RNS szintjében) [129], vagy akár a herék túlsúlyosság miatt emelkedett hőmérséklete is mind kapcsolatban lehetnek a fertilitási állapotot befolyásoló elhízással [134].

A férfiak infertilitásának bizonyosan soktényezős, a környezettel és az életmóddal kapcsolatos

etiológiája van, amelyek mind módosíthatják a túlsúlyosság hatását. Jelen tanulmányunknak van néhány korlátja. Miután az adatgyűjtést egy andrológiai járóbeteg-rendelőben végeztük, korlátozott adatok állnak rendelkezésre a női fertilitási faktorokról. Mivel a rutin andrológiai vizsgálat csak súlyos pathozoospermia vagy hereelégtelenség esetén tartalmaz hormonmeghatározást, a reprodukív hormonok szintje és a HBA vagy a BMI közötti kapcsolatot ez a tanulmány nem vizsgálta.

Következtetésként elmondható, hogy a jelen tanulmány legjobb ismereteink szerint első alkalommal nyújt elemzést az elhízásnak a spermiumok hialuronán-kötési képességére gyakorolt hatásáról a nem dohányzó, infertilis férfiak körében. Eredményeink azt sugallják, hogy a testtömeg változásainak hatása a hialuronán-kötésre kisebb, mint a testtömeg indexé, azaz a BMI növekedése önmagában (azaz dohányzás nélkül) jobban korrelál az infertilitással, mint a testtömeg növekedése, ami újdonság. Eredményeink képviselik a BMI és HB-MaSC korreláció első bemutatását. Ez a kapcsolat nemcsak jól korrelál a BMI-spermiumszám összefüggéssel, de némileg érzékenyebbnek is bizonyult a BMI növekedésére.

Még előnyösebb, hogy a számítási módszerünk figyelembe veszi a spermiumok funkcionalitását, mivel egyszerre használja a spermiumsűrűség, a progresszív motilitás és a HA-kötési kapacitás értékeit, így további információt biztosít. A HB-MaSC határozottabb összefüggést tükröz az elhízás és az infertilitás között, mint a testtömeg vagy a klasszikus spermatológiai mutatók. Így a tudományos irodalomban a spermiumszám és a motilitás összefüggéseivel kapcsolatban fellelhető ellentmondások ellenére a HB-MaSC mutató alkalmazását javasoljuk, amely a konvencionális és a funkcionális spermiumparamétereket kombinálva segít a fertilitási állapot értékelésében.

6. Összefoglalás

A klasszikus spermatológiai vizsgálat gyors, költséghatékony, de számos mai eljáráshoz nem ad lényegi információt, a funkcionális tesztek pedig főleg az in vitro megtermékenyítés szempontjából vizsgálják a megtermékenyítő képességet. Mivel a spermiumsűrűsége szükséges van a kezelési stratégiákhoz, és a motilitás befolyásolja a HA-kötési kapacitást, azt feltételezzük, hogy a mindennapi andrológiai gyakorlatban a HBA-eredmény egyszerűen önmagában, a spermiumsűrűség és a progresszíven mozgó spermiumok arányának ismerete nélkül nem biztosít elégséges információt a férfiak fertilitásának megítéléséhez. Az eddig használt paramétereket (spermiumsűrűség, motilitás, morfológia) és a HBA[®] teszt eredményeit kombinálva gyakorlati szempontból hasznosnak találtuk, hogy ezeket az adatokat egy mutatóba rendezzük össze. Ezt a mutatót HB-MaSC-nek (Hyaluronan Bound Matured Sperm Count, hialuronánhoz kötődő érett spermiumok száma) nevezzük, amely az egy ml ondóban található spermiumok számának, a progresszíven mozgó spermiumok százalékos arányának és a hialuronsavhoz kötődő, mozgó spermiumok percentilisének szorzatát adja meg.

Eredményeink alapján meg vagyunk győződve arról, hogy a HBA-analízis és az abból származtatott mutató (HB-MaSC) egy objektív, standardizálható teszt, amely a megtermékenyítő-képesség egy jobb megközelítését nyújtja, mivel tükrözi a mozgó spermiumok arányát is. Úgy gondoljuk, ez a továbbfejlesztett paraméter az, ami megadja a funkcionáló, érett spermiumoknak az ondómintában lévő valódi számát, emiatt ennek az indexnek a bevezetését javasoljuk a mindennapi andrológiai gyakorlatban is.

Mivel ez az új index jó korrelációt mutat a spermiumokat ért károsító tényezőkkel is, javasoljuk ezen index alkalmazását az andrológiai kutatások során is.

A taurint, magnéziumot, karnitint, arginint, C-vitamint, E-vitamint, Q10-koenzimet, cinket, béta-karotint, B6-vitamint, folsavat, szelént, B12-vitamint és D3-vitamint tartalmazó komplex étrend-kiegészítők alkalmazása előnyös lehet a férfiak infertilitásának kezelésében. A vonatkozó irodalom többségének megfelelően azt tapasztaltuk, hogy a spermiumok száma és a sikeres megtermékenyítés képessége szignifikáns javulást mutatott a komplex kiegészítő terápiának köszönhetően, emiatt indokolt esetben azok alkalmazását javasoljuk az andrológiai gyakorlatban.

7. Summary

Conventional spermatological examinations are cost-effective and quick to perform, but do not provide substantial information for many of today's procedures, while functional tests examine fertility primarily from the perspective of in vitro fertilization. As sperm density is required for treatment strategies and motility affects HA binding capacity, we assume that in everyday andrological practice, the HBA score alone—without knowledge of sperm density and the proportion of progressively moving spermatozoa—does not provide sufficient information to assess male fertility. We found it practically useful to organize the data from the parameters already in use (sperm density, motility, morphology) and the results of the HBA[®] test into one index. We call this index HB-MaSC (Hyaluronan Bound Matured Sperm Count), which stands for the product of the number of spermatozoa in 1 ml semen, the percentage of progressively motile sperm and the percentile of moving spermatozoa binding to hyaluronic acid.

Based on our results, we are convinced that HBA analysis and the index derived from it (HB-MaSC) is an objective, standardisable test that provides a better approach to fertility potential, as it also reflects the proportion of motile sperm. We believe that this improved parameter is the one that provides the true number of functioning, matured spermatozoa in one ml semen sample, therefore, we recommend the introduction of this index in everyday andrological practice.

As this new index also shows a good correlation with sperm-damaging factors, we recommend the use of this index in andrological research as well.

Complex dietary supplements containing taurine, magnesium, carnitine, arginine, vitamin C, vitamin E, coenzyme Q10, zinc, beta-carotene, vitamin B6, folic acid, selenium, vitamin B12 and vitamin D3 may be beneficial in the treatment of male infertility. In line with the majority of relevant literature, we have found that sperm count and the ability of successful fertilization showed significant improvement due to the complex supplement therapy, therefore—where appropriate—we recommend their use in andrological practice.

8. Rövidítések jegyzéke

AZF	azoospermia faktor (Azoospermia Factor Region)
BMI	testtömegindex (Body Mass Index)
CFTR	cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia regulátor (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator)
CBAVD	vas deferens veleszületett kétoldalú hiánya (Congenital Bilateral Absence of the Vas Deferens)
CUAVD	vas deferens veleszületett egyoldalú hiánya (Congenital Unilateral Absence of the Vas Deferens)
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav (ethylenediaminetetraacetic acid)
DTT	ditiotritol
DNS	dezoxiribonukleinsav
FSH	follikulusstimuláló hormon
HA	hyaluronsav (Hyaluronic Acid)
HBA [®]	hyaluronsav-kötési assay (Hyaluronan Binding Assay)
HB-MaSC	hyaluronsavhoz kötődő érett hímivarsejt szám (Hyaluronan Bound Matured Sperm Count)
HBR	hyaluronsav kötő receptor (Hyaluronan Binding Receptor)
HCG	humán chorion gonadotropin
HMG	humán menopauza gonadotropin
HOST	Hypo-osmotic Swelling Test
HspA2	70 kDa hősokk fehérje (Heat shock-related 70 kDa protein 2)

ICSI	intracytoplazmatikus spermium injektálás (Intracytoplasmic Sperm Injection)
IM	immotilitás
IVF	in vitro fertilizáció (In Vitro Fertilization)
MESA	spermium mikrosebészeti epididimális aspirációja (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration)
Micro-TESE	spermium mikrosebészeti mintavétel heréből (Microsurgical testicular sperm extraction)
NP	nem progresszív motilitás
OAT	oligo-astheno-teratozoospermia
PICSI	Physiological ICSI (intracytoplazmatikus spermiuminjekcióra kiválasztással (picked for ICSI) a lehető legfiziológiásabb (legalkalmasabb) spermium beültetése
PR	progresszív motilitás
r-h FSH	rekombináns humán FSH (recombinant human FSH)
ROS	reaktív oxigén gyökök (Reactive Oxygen Species)
SCD teszt	spermium kromatin diszperziós teszt
SCO	Sertoli cell only
SEM	az átlag standard hibája (Standard Error of Mean)
SHBG	nemihormon-kötő fehérje (Sex Hormone Binding Globulin)
SPA	spermium-penetrációs vizsgálat (Sperm Penetration Assay)
TESE	spermium sebészeti mintavétel heréből (Testicular Sperm Extraction)
TEX 11	herében kifejeződve 11 (Testis Expressed 11)

TURED	ejaculatorius ductusok transurethralis rezekciója (Transurethral Resection of the Ejaculatory Ducts)
WHO	Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization)
WHO-PR a	WHO irányelveinek megfelelően mért progresszív motilitás
ZP	zona pellucida
ZP3	hímivarsejtre specifikus zona pellucida-kötő receptor 3 (Zona pellucida sperm-binding protein 3)

9. Irodalomjegyzék

9.1. Hivatkozott közlemények

1. Flemming, R. The invention of infertility in the classical greek world: Medicine, divinity, and gender. *Bulletin of the history of medicine* **2013**, 87, 565-590.
2. Johnston, D.R. The history of human infertility. *Fertility and sterility* **1963**, 14, 261-272.
3. Evans, J. 'They are called imperfect men': Male infertility and sexual health in early modern england. *Social history of medicine : the journal of the Society for the Social History of Medicine* **2016**, 29, 311-332.
4. Longo, L.D. The rise of fetal and neonatal physiology: Basic science to clinical care. Springer Nature Switzerland AG.: 2018; p 842 (p. 117).
5. Andrade-Rocha, F.T. On the origins of the semen analysis: A close relationship with the history of the reproductive medicine. *J Hum Reprod Sci* **2017**, 10, 242-255.
6. Macleod, J.; Gold, R.Z. The male factor in fertility and infertility. Ii. Spermatozoon counts in 1000 men of known fertility and in 1000 cases of infertile marriage. *The Journal of urology* **2017**, 197, S78-s91.
7. Ombelet, W.; Van Robays, J. Artificial insemination history: Hurdles and milestones. *Facts, views & vision in ObGyn* **2015**, 7, 137-143.
8. Steptoe, P.C.; Edwards, R.G. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet (London, England)* **1978**, 2, 366.
9. Lanzendorf, S.E.; Maloney, M.K.; Veeck, L.L.; Slusser, J.; Hodgen, G.D.; Rosenwaks, Z. A preclinical evaluation of pronuclear formation by microinjection of human spermatozoa into human oocytes. *Fertility and sterility* **1988**, 49, 835-842.
10. Nagy György, V.B., Lantos Tibor, Molnár Judit, Oláh Imre, Gerendai Ida, Csáki Ágnes. *Szövettan*. Semmelweis Kiadó: 2014; p 542.
11. Szmelskyj, I.; Aquilina, L.; Szmelskyj, A.O. Chapter 2 - anatomy and physiology of the reproductive system: Prerequisites for conception. In *Acupuncture for ivf and assisted reproduction*, Szmelskyj, I.; Aquilina, L.; Szmelskyj, A.O., Eds. Churchill Livingstone: 2015; pp 23-58.
12. János, S., Miklós, Réthelyi. *Funkcionális anatómia i*. Medicina Könyvkiadó Zrt.: 2006.
13. György, P. *Az andrológia tankönyve*. MEDICINA KÖNYVKIADÓ zRT.: 2000; p 248.
14. Ickowicz, D.; Finkelstein, M.; Breitbart, H. Mechanism of sperm capacitation and the acrosome reaction: Role of protein kinases. *Asian journal of andrology* **2012**, 14, 816-821.
15. Okabe, M. The cell biology of mammalian fertilization. *Development (Cambridge, England)* **2013**, 140, 4471-4479.
16. WHO. Obesity and overweight. 2020.
17. Bakos, H.W.; Mitchell, M.; Setchell, B.P.; Lane, M. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. *International journal of andrology* **2011**, 34, 402-410.
18. Cabler, S.; Agarwal, A.; Flint, M.; du Plessis, S.S. Obesity: Modern man's fertility nemesis. *Asian journal of andrology* **2010**, 12, 480-489.
19. Fejes, I.; Koloszar, S.; Szollosi, J.; Zavaczki, Z.; Pal, A. Is semen quality affected by male body fat distribution? *Andrologia* **2005**, 37, 155-159.

20. Hajshafiha, M.; Ghareaghaji, R.; Salemi, S.; Sadegh-Asadi, N.; Sadeghi-Bazargani, H. Association of body mass index with some fertility markers among male partners of infertile couples. *International journal of general medicine* **2013**, *6*, 447-451.
21. Hakonsen, L.B.; Thulstrup, A.M.; Aggerholm, A.S.; Olsen, J.; Bonde, J.P.; Andersen, C.Y.; Bungum, M.; Ernst, E.H.; Hansen, M.L.; Ernst, E.H., *et al.* Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men. *Reproductive health* **2011**, *8*, 24.
22. Koloszar, S.; Fejes, I.; Zavaczki, Z.; Daru, J.; Szollosi, J.; Pal, A. Effect of body weight on sperm concentration in normozoospermic males. *Archives of andrology* **2005**, *51*, 299-304.
23. Kort, H.I.; Massey, J.B.; Elsner, C.W.; Mitchell-Leef, D.; Shapiro, D.B.; Witt, M.A.; Roudebush, W.E. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *Journal of andrology* **2006**, *27*, 450-452.
24. Campagne, D.M. Can male fertility be improved prior to assisted reproduction through the control of uncommonly considered factors? *International journal of fertility & sterility* **2013**, *6*, 214-223.
25. Holden, C.A.; McLachlan, R.I.; Pitts, M.; Cumming, R.; Wittert, G.; Ehsani, J.P.; de Kretser, D.M.; Handelsman, D.J. Determinants of male reproductive health disorders: The men in australia telephone survey (mates). In *BMC Public Health*, 2010; Vol. 10, p 96.
26. Tunc, O.; Bakos, H.W.; Tremellen, K. Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia* **2011**, *43*, 121-128.
27. Fui Mn Fau - Dupuis, P.; Dupuis P Fau - Grossmann, M.; Grossmann, M. Lowered testosterone in male obesity: Mechanisms, morbidity and management.
28. de Boer, H.; Verschoor L Fau - Ruinemans-Koerts, J.; Ruinemans-Koerts J Fau - Jansen, M.; Jansen, M. Letrozole normalizes serum testosterone in severely obese men with hypogonadotropic hypogonadism.
29. Luboshitzky, R.; Aviv, A.; Hefetz, A.; Herer, P.; Shen-Orr, Z.; Lavie, L.; Lavie, P. Decreased pituitary-gonadal secretion in men with obstructive sleep apnea. *J Clin Endocrinol Metab* **2002**, *87*, 3394-3398.
30. Vermeulen, A.; Kaufman, J.M.; Deslypere, J.P.; Thomas, G. Attenuated luteinizing hormone (lh) pulse amplitude but normal lh pulse frequency, and its relation to plasma androgens in hypogonadism of obese men. *J Clin Endocrinol Metab* **1993**, *76*, 1140-1146.
31. Pearce, K.L.; Hill, A.; Tremellen, K.P. Obesity related metabolic endotoxemia is associated with oxidative stress and impaired sperm DNA integrity. *Basic and clinical andrology* **2019**, *29*, 6.
32. Sermondade, N.; Dupont, C.; Faure, C.; Boubaya, M.; Cédric-Durnerin, I.; Chavatte-Palmer, P.; Sifer, C.; Lévy, R. Body mass index is not associated with sperm-zona pellucida binding ability in subfertile males. *Asian journal of andrology* **2013**, *15*, 626-629.
33. Macdonald, A.A.; Stewart, A.W.; Farquhar, C.M. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones in new zealand men: A cross-sectional study in fertility clinics. *Human reproduction (Oxford, England)* **2013**, *28*, 3178-3187.
34. Leslie, S.W.; Sajjad, H.; Siref, L.E. Varicocele. In *Statpearls*, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL), 2020.
35. Jensen, C.F.S.; Ostergren, P.; Dupree, J.M.; Ohl, D.A.; Sonksen, J.; Fode, M. Varicocele and male infertility. *Nature reviews. Urology* **2017**, *14*, 523-533.
36. Kantartzi, P.D.; Goulis, C.; Goulis, G.D.; Papadimas, I. Male infertility and varicocele: Myths and reality. *Hippokratia* **2007**, *11*, 99-104.

37. Ding, H.; Tian, J.; Du, W.; Zhang, L.; Wang, H.; Wang, Z. Open non-microsurgical, laparoscopic or open microsurgical varicocelectomy for male infertility: A meta-analysis of randomized controlled trials. *BJU international* **2012**, *110*, 1536-1542.
38. Jungwirth, A.; Giwercman, A.; Tournaye, H.; Diemer, T.; Kopa, Z.; Dohle, G.; Krausz, C. European association of urology guidelines on male infertility: The 2012 update. *European urology* **2012**, *62*, 324-332.
39. Pryor, J.L.; Howards, S.S. Varicocele. *The Urologic clinics of North America* **1987**, *14*, 499-513.
40. Schlesinger, M.H.; Wilets, I.F.; Nagler, H.M. Treatment outcome after varicocelectomy. A critical analysis. *The Urologic clinics of North America* **1994**, *21*, 517-529.
41. Ferlin, A.; Arredi, B.; Foresta, C. Genetic causes of male infertility. *Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)* **2006**, *22*, 133-141.
42. Davila Garza, S.A.; Patrizio, P. Reproductive outcomes in patients with male infertility because of klinefelter's syndrome, kartagener's syndrome, round-head sperm, dysplasia fibrous sheath, and 'stump' tail sperm: An updated literature review. *Current opinion in obstetrics & gynecology* **2013**, *25*, 229-246.
43. Wang, C.; Baker, H.W.; Burger, H.G.; De Kretser, D.M.; Hudson, B. Hormonal studies in klinefelter's syndrome. *Clinical endocrinology* **1975**, *4*, 399-411.
44. Staessen, C.; Tournaye, H.; Van Assche, E.; Michiels, A.; Van Landuyt, L.; Devroey, P.; Liebaers, I.; Van Steirteghem, A. Pgd in 47, xxy klinefelter's syndrome patients. *Human reproduction update* **2003**, *9*, 319-330.
45. Ramphul, K.; Zulfiqar, H.; Mejias, S.G. Sertoli-cell-only syndrome. In *Statpearls*, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL), 2020.
46. Liu, T.; Song, Y.X.; Jiang, Y.M. Early detection of y chromosome microdeletions in infertile men is helpful to guide clinical reproductive treatments in southwest of china.
47. Dwyer, A.A.; Raivio, T.; Pitteloud, N. Gonadotrophin replacement for induction of fertility in hypogonadal men. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism* **2015**, *29*, 91-103.
48. Flannigan, R.; Schlegel, P.N. Genetic diagnostics of male infertility in clinical practice. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology* **2017**, *44*, 26-37.
49. Wosnitzer, M.S.; Goldstein, M. Obstructive azoospermia. *The Urologic clinics of North America* **2014**, *41*, 83-95.
50. Krausz, C.; Giachini, C. Genetic risk factors in male infertility. *Archives of andrology* **2007**, *53*, 125-133.
51. Giwercman, A.; Hansen, L.L.; Skakkebaek, N.E. Initiation of sperm production after bilateral orchiopexy: Clinical and biological implications. *The Journal of urology* **2000**, *163*, 1255-1256.
52. Lee, P.A.; Houk, C.P. Cryptorchidism. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity* **2013**, *20*, 210-216.
53. Heidenreich, A.; Moul, J.W. Contralateral testicular biopsy procedure in patients with unilateral testis cancer: Is it indicated? *Seminars in urologic oncology* **2002**, *20*, 234-238.
54. Colpi, G.M. *L'infertilità maschile oggi - male male infertility today* 2002; Vol. 3.
55. Agarwal, A.; Sekhon, L.H. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. *Human fertility (Cambridge, England)* **2010**, *13*, 217-225.
56. Agarwal, A.; Sekhon, L.H. Oxidative stress and antioxidants for idiopathic oligoasthenoteratospermia: Is it justified? *Indian journal of urology : IJU : journal of the Urological Society of India* **2011**, *27*, 74-85.

57. Hunt, C.D.; Johnson, P.E.; Herbel, J.; Mullen, L.K. Effects of dietary zinc depletion on seminal volume and zinc loss, serum testosterone concentrations, and sperm morphology in young men. *Am J Clin Nutr* **1992**, *56*, 148-157.
58. Kessopoulou, E.; Powers, H.J.; Sharma, K.K.; Pearson, M.J.; Russell, J.M.; Cooke, I.D.; Barratt, C.L. A double-blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin e to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertility and sterility* **1995**, *64*, 825-831.
59. Rolf, C.; Cooper, T.G.; Yeung, C.H.; Nieschlag, E. Antioxidant treatment of patients with asthenozoospermia or moderate oligoasthenozoospermia with high-dose vitamin c and vitamin e: A randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Human reproduction (Oxford, England)* **1999**, *14*, 1028-1033.
60. Wallock, L.M.; Tamura, T.; Mayr, C.A.; Johnston, K.E.; Ames, B.N.; Jacob, R.A. Low seminal plasma folate concentrations are associated with low sperm density and count in male smokers and nonsmokers. *Fertility and sterility* **2001**, *75*, 252-259.
61. Hemingway, R.G. The influences of dietary intakes and supplementation with selenium and vitamin e on reproduction diseases and reproductive efficiency in cattle and sheep. *Veterinary research communications* **2003**, *27*, 159-174.
62. Balercia, G.; Mosca, F.; Mantero, F.; Boscaro, M.; Mancini, A.; Ricciardo-Lamonica, G.; Littarru, G. Coenzyme q(10) supplementation in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: An open, uncontrolled pilot study. *Fertility and sterility* **2004**, *81*, 93-98.
63. Dokmeci, D. Oxidative stress, male infertility and the role of carnitines. *Folia medica* **2005**, *47*, 26-30.
64. Hammoud, A.O.; Meikle, A.W.; Peterson, C.M.; Stanford, J.; Gibson, M.; Carrell, D.T. Association of 25-hydroxy-vitamin d levels with semen and hormonal parameters. *Asian journal of andrology* **2012**, *14*, 855-859.
65. Anagnostis, P.; Karras, S.; Goulis, D.G. Vitamin d in human reproduction: A narrative review. *International journal of clinical practice* **2013**, *67*, 225-235.
66. Abad, C.; Amengual, M.J.; Gosálvez, J.; Coward, K.; Hannaoui, N.; Benet, J.; Garcia-Peiro, A.; Prats, J. Effects of oral antioxidant treatment upon the dynamics of human sperm DNA fragmentation and subpopulations of sperm with highly degraded DNA. *Andrologia* **2013**, *45*, 211-216.
67. Busetto, G.M.; Koverech, A.; Messano, M.; Antonini, G.; De Berardinis, E.; Gentile, V. Prospective open-label study on the efficacy and tolerability of a combination of nutritional supplements in primary infertile patients with idiopathic astenoteratozoospermia. *Archivio italiano di urologia, andrologia : organo ufficiale [di] Societa italiana di ecografia urologica e nefrologica* **2012**, *84*, 137-140.
68. Wirleitner, B.; Vanderzwalmen, P.; Stecher, A.; Spitzer, D.; Schuff, M.; Schwerda, D.; Bach, M.; Schechinger, B.; Herbert Zech, N. Dietary supplementation of antioxidants improves semen quality of ivf patients in terms of motility, sperm count, and nuclear vacuolization. *International journal for vitamin and nutrition research. Internationale Zeitschrift für Vitamin- und Ernährungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition* **2012**, *82*, 391-398.
69. Azizollahi, G.; Azizollahi, S.; Babaei, H.; Kianinejad, M.; Baneshi, M.R.; Nematollahi-mahani, S.N. Effects of supplement therapy on sperm parameters, protamine content and acrosomal integrity of varicocelectomized subjects. *Journal of assisted reproduction and genetics* **2013**, *30*, 593-599.
70. Chua, M.E.; Escusa, K.G.; Luna, S.; Tapia, L.C.; Dofitas, B.; Morales, M. Revisiting oestrogen antagonists (clomiphene or tamoxifen) as medical empiric therapy for idiopathic male infertility: A meta-analysis. *Andrology* **2013**, *1*, 749-757.

71. Attia, A.M.; Abou-Setta, A.M.; Al-Inany, H.G. Gonadotrophins for idiopathic male factor subfertility. *The Cochrane database of systematic reviews* **2013**, Cd005071.
72. Imamovic Kumalic, S.; Pinter, B. Review of clinical trials on effects of oral antioxidants on basic semen and other parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *BioMed research international* **2014**, 2014, 426951.
73. Showell, M.G.; Mackenzie-Proctor, R.; Brown, J.; Yazdani, A.; Stankiewicz, M.T.; Hart, R.J. Antioxidants for male subfertility. *The Cochrane database of systematic reviews* **2014**, Cd007411.
74. Ross, C.; Morriss, A.; Khairy, M.; Khalaf, Y.; Braude, P.; Coomarasamy, A.; El-Toukhy, T. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reproductive biomedicine online* **2010**, 20, 711-723.
75. Banihani, S.A. Vitamin b(12) and semen quality. Lid - 10.3390/biom7020042 [doi] lid - 42.
76. Cito, G.A.-O.; Cocci, A.A.-O.; Micelli, E.A.-O.; Gabutti, A.A.-O.; Russo, G.A.-O.; Coccia, M.A.-O.X.; Franco, G.A.-O.; Serni, S.A.-O.X.; Carini, M.A.-O.; Natali, A.A.-O. Vitamin d and male fertility: An updated review.
77. Morales, M.E.; Rico G Fau - Bravo, C.; Bravo C Fau - Tapia, R.; Tapia R Fau - Alvarez, C.; Alvarez C Fau - Méndez, J.D.; Méndez, J.D. [progressive motility increase caused by l-arginine and polyamines in sperm from patients with idiopathic and diabetic asthenozoospermia].
78. Agarwal, A.; Said, T.M. Carnitines and male infertility. *Reproductive biomedicine online* **2004**, 8, 376-384.
79. Yang, J.; Wu G Fau - Feng, Y.; Feng Y Fau - Lv, Q.; Lv Q Fau - Lin, S.; Lin S Fau - Hu, J.; Hu, J. Effects of taurine on male reproduction in rats of different ages.
80. Kizilay, F.; Altay, B. Sperm function tests in clinical practice. *Turkish journal of urology* **2017**, 43, 393-400.
81. Rogers, B.J.; Van Campen, H.; Ueno, M.; Lambert, H.; Bronson, R.; Hale, R. Analysis of human spermatozoal fertilizing ability using zona-free ova. *Fertility and sterility* **1979**, 32, 664-670.
82. Oehninger, S.; Franken, D.R.; Sayed, E.; Barroso, G.; Kolm, P. Sperm function assays and their predictive value for fertilization outcome in ivf therapy: A meta-analysis. *Human reproduction update* **2000**, 6, 160-168.
83. Oehninger, S.; Morshedi, M.; Franken, D. The hemizona assay for assessment of sperm function. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* **2013**, 927, 91-102.
84. Goericke-Pesch, S.; Failing, K. Retrospective analysis of canine semen evaluations with special emphasis on the use of the hypoosmotic swelling (hos) test and acrosomal evaluation using spermac((r)). *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* **2013**, 48, 213-217.
85. Fernandez, J.L.; Muriel, L.; Goyanes, V.; Segrelles, E.; Gosalvez, J.; Enciso, M.; LaFromboise, M.; De Jonge, C. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test. *Fertility and sterility* **2005**, 84, 833-842.
86. Noblanc, A.; Kocer, A.; Drevet, J.R. Recent knowledge concerning mammalian sperm chromatin organization and its potential weaknesses when facing oxidative challenge. *Basic and clinical andrology* **2014**, 24, 6.
87. Tomlinson, M.J.; Moffatt, O.; Manicardi, G.C.; Bizzaro, D.; Afnan, M.; Sakkas, D. Interrelationships between seminal parameters and sperm nuclear DNA damage before and after density gradient centrifugation: Implications for assisted conception. *Human reproduction (Oxford, England)* **2001**, 16, 2160-2165.

88. Palermo, G.D.; Neri, Q.V.; Cozzubbo, T.; Rosenwaks, Z. Perspectives on the assessment of human sperm chromatin integrity. *Fertility and sterility* **2014**, *102*, 1508-1517.
89. Gopalkrishnan, K.; Hinduja, I.N.; Kumar, T.C. In vitro decondensation of nuclear chromatin of human spermatozoa: Assessing fertilizing potential. *Archives of andrology* **1991**, *27*, 43-50.
90. Natali, A.; Turek, P.J. An assessment of new sperm tests for male infertility. *Urology* **2011**, *77*, 1027-1034.
91. Huszar, G.; Ozenci, C.C.; Cayli, S.; Zavaczki, Z.; Hansch, E.; Vigue, L. Hyaluronic acid binding by human sperm indicates cellular maturity, viability, and unreacted acrosomal status. *Fertility and sterility* **2003**, *79 Suppl 3*, 1616-1624.
92. Abstracts of the 27th annual meeting of the american society of andrology. April 24-27, 2002. Seattle, washington, USA. *Journal of andrology* **2002**, *Suppl*, 23-61.
93. Myles, D.G.; Primakoff, P. Why did the sperm cross the cumulus? To get to the oocyte. Functions of the sperm surface proteins ph-20 and fertilin in arriving at, and fusing with, the egg. *Biology of reproduction* **1997**, *56*, 320-327.
94. Sabeur, K.; Cherr, G.N.; Yudin, A.I.; Overstreet, J.W. Hyaluronic acid enhances induction of the acrosome reaction of human sperm through interaction with the ph-20 protein. *Zygote (Cambridge, England)* **1998**, *6*, 103-111.
95. Gupta, S.K.; Bhandari, B.; Shrestha, A.; Biswal, B.K.; Palaniappan, C.; Malhotra, S.S.; Gupta, N. Mammalian zona pellucida glycoproteins: Structure and function during fertilization. *Cell and tissue research* **2012**, *349*, 665-678.
96. Redgrove, K.A.; Nixon, B.; Baker, M.A.; Hetherington, L.; Baker, G.; Liu, D.Y.; Aitken, R.J. The molecular chaperone hspa2 plays a key role in regulating the expression of sperm surface receptors that mediate sperm-egg recognition. *PLoS One* **2012**, *7*, e50851.
97. Abdelmassih, S.; Cardoso, J.; Abdelmassih, V.; Dias, J.A.; Abdelmassih, R.; Nagy, Z.P. Laser-assisted icsi: A novel approach to obtain higher oocyte survival and embryo quality rates. *Human reproduction (Oxford, England)* **2002**, *17*, 2694-2699.
98. Ergur, A.R.; Dokras, A.; Giraldo, J.L.; Habana, A.; Kovanci, E.; Huszar, G. Sperm maturity and treatment choice of in vitro fertilization (ivf) or intracytoplasmic sperm injection: Diminished sperm hspa2 chaperone levels predict ivf failure. *Fertility and sterility* **2002**, *77*, 910-918.
99. Huszar, G.; Ozkavukcu, S.; Jakab, A.; Celik-Ozenci, C.; Sati, G.L.; Cayli, S. Hyaluronic acid binding ability of human sperm reflects cellular maturity and fertilizing potential: Selection of sperm for intracytoplasmic sperm injection. *Current opinion in obstetrics & gynecology* **2006**, *18*, 260-267.
100. Celik-Ozenci, C.; Jakab, A.; Kovacs, T.; Catalanotti, J.; Demir, R.; Bray-Ward, P.; Ward, D.; Huszar, G. Sperm selection for icsi: Shape properties do not predict the absence or presence of numerical chromosomal aberrations. *Human reproduction (Oxford, England)* **2004**, *19*, 2052-2059.
101. Jakab, A.; Sakkas, D.; Delpiano, E.; Cayli, S.; Kovanci, E.; Ward, D.; Revelli, A.; Huszar, G. Intracytoplasmic sperm injection: A novel selection method for sperm with normal frequency of chromosomal aneuploidies. *Fertility and sterility* **2005**, *84*, 1665-1673.
102. Huszar, G.; Jakab, A.; Sakkas, D.; Ozenci, C.C.; Cayli, S.; Delpiano, E.; Ozkavukcu, S. Fertility testing and icsi sperm selection by hyaluronic acid binding: Clinical and genetic aspects. *Reproductive biomedicine online* **2007**, *14*, 650-663.

103. Nasr-Esfahani, M.H.; Razavi, S.; Vahdati, A.A.; Fathi, F.; Tavalaei, M. Evaluation of sperm selection procedure based on hyaluronic acid binding ability on icsi outcome. *Journal of assisted reproduction and genetics* **2008**, *25*, 197-203.
104. Huszar, G. Sperm testing and icsi selection by hyaluronic acid binding: The hyaluronic acid-coated glass slide and petri dish in the andrology and ivf laboratories. 2012; pp 241-257.
105. Worrlow, K.C.; Eid, S.; Woodhouse, D.; Perloe, M.; Smith, S.; Witmyer, J.; Ivani, K.; Khoury, C.; Ball, G.D.; Elliot, T., *et al.* Use of hyaluronan in the selection of sperm for intracytoplasmic sperm injection (icsi): Significant improvement in clinical outcomes--multicenter, double-blinded and randomized controlled trial. *Human reproduction (Oxford, England)* **2013**, *28*, 306-314.
106. Mongkolkehaipak, S.; Vutyavanich, T. No difference in high-magnification morphology and hyaluronic acid binding in the selection of euploid spermatozoa with intact DNA. *Asian journal of andrology* **2013**, *15*, 421-424.
107. Avalos-Durán, G.; Cañedo-Del Ángel, A.M.E.; Rivero-Murillo, J.; Zambrano-Guerrero, J.E.; Carballo-Mondragón, E.; Checa-Vizcaíno, M. Physiological icsi (picsi) vs. Conventional icsi in couples with male factor: A systematic review.
108. Yagci, A.; Murk, W.; Stronk, J.; Huszar, G. Spermatozoa bound to solid state hyaluronic acid show chromatin structure with high DNA chain integrity: An acridine orange fluorescence study. *Journal of andrology* **2010**, *31*, 566-572.
109. Cole, L.A. Chapter 19 - sperm activation, fertilization, morula, blastocyst formation, and twinning. In *Biology of life*, Cole, L.A., Ed. Academic Press: 2016; pp 143-150.
110. Petrosian, A.M.; Haroutounian, J.E. Taurine as a universal carrier of lipid soluble vitamins: A hypothesis. *Amino acids* **2000**, *19*, 409-421.
111. Schaffer, S.; Takahashi, K.; Azuma, J. Role of osmoregulation in the actions of taurine. *Amino acids* **2000**, *19*, 527-546.
112. Wong, W.Y.; Merkus, H.M.; Thomas, C.M.; Menkveld, R.; Zielhuis, G.A.; Steegers-Theunissen, R.P. Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Fertility and sterility* **2002**, *77*, 491-498.
113. Ng, C.M.; Blackman, M.R.; Wang, C.; Swerdloff, R.S. The role of carnitine in the male reproductive system. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2004**, *1033*, 177-188.
114. Sheweita, S.A.; Tilmisany, A.M.; Al-Sawaf, H. Mechanisms of male infertility: Role of antioxidants. *Current drug metabolism* **2005**, *6*, 495-501.
115. Cooper, T.G.; Noonan, E.; von Eckardstein, S.; Auger, J.; Baker, H.W.; Behre, H.M.; Haugen, T.B.; Kruger, T.; Wang, C.; Mbizvo, M.T., *et al.* World health organization reference values for human semen characteristics. *Human reproduction update* **2010**, *16*, 231-245.
116. Szucs, M.; Osvath, P.; Laczko, I.; Jakab, A. Adequacy of hyaluronan binding assay and a new fertility index derived from it for measuring of male fertility potential and the efficacy of supplement therapy. *Andrologia* **2015**, *47*, 519-524.
117. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults--the evidence report. National institutes of health. *Obesity research* **1998**, *6 Suppl 2*, 51s-209s.
118. Ombelet, W.; Bosmans, E.; Janssen, M.; Cox, A.; Vlasselaer, J.; Gyselaers, W.; Vandeput, H.; Gielen, J.; Pollet, H.; Maes, M., *et al.* Semen parameters in a fertile versus subfertile population: A need for change in the interpretation of semen testing. *Human reproduction (Oxford, England)* **1997**, *12*, 987-993.

119. Huszar, G.; Vigue, L.; Oehninger, S. Creatine kinase immunocytochemistry of human sperm-hemizona complexes: Selective binding of sperm with mature creatine kinase-staining pattern. *Fertility and sterility* **1994**, *61*, 136-142.
120. Ranganathan, S.; Ganguly, A.K.; Datta, K. Evidence for presence of hyaluronan binding protein on spermatozoa and its possible involvement in sperm function. *Molecular reproduction and development* **1994**, *38*, 69-76.
121. Nguyen, R.H.; Wilcox, A.J.; Skjaerven, R.; Baird, D.D. Men's body mass index and infertility. *Human reproduction (Oxford, England)* **2007**, *22*, 2488-2493.
122. Sermondade, N.; Faure, C.; Fezeu, L.; Shayeb, A.G.; Bonde, J.P.; Jensen, T.K.; Van Wely, M.; Cao, J.; Martini, A.C.; Eskandar, M., *et al.* Bmi in relation to sperm count: An updated systematic review and collaborative meta-analysis. *Human reproduction update* **2013**, *19*, 221-231.
123. Chavarro, J.E.; Toth, T.L.; Wright, D.L.; Meeker, J.D.; Hauser, R. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertility and sterility* **2010**, *93*, 2222-2231.
124. Ramaraju, G.A.; Teppala, S.; Prathigudupu, K.; Kalagara, M.; Thota, S.; Kota, M.; Cheemakurthi, R. Association between obesity and sperm quality. *Andrologia* **2018**, *50*.
125. Keskin, M.Z.; Budak, S.; Aksoy, E.E.; Yücel, C.; Karamazak, S.; Ilbey, Y.O.; Kozacıoğlu, Z. Investigation of the effect of body mass index (bmi) on semen parameters and male reproductive system hormones. *Archivio italiano di urologia, andrologia : organo ufficiale [di] Societa italiana di ecografia urologica e nefrologica* **2017**, *89*, 219-221.
126. Keltz, J.; Zapantis, A.; Jindal, S.K.; Lieman, H.J.; Santoro, N.; Polotsky, A.J. Overweight men: Clinical pregnancy after art is decreased in ivf but not in icsi cycles. *Journal of assisted reproduction and genetics* **2010**, *27*, 539-544.
127. Thomsen, L.; Humaidan, P.; Bungum, L.; Bungum, M. The impact of male overweight on semen quality and outcome of assisted reproduction. *Asian journal of andrology* **2014**, *16*, 749-754.
128. Wegner, C.C.; Clifford, A.L.; Jilbert, P.M.; Henry, M.A.; Gentry, W.L. Abnormally high body mass index and tobacco use are associated with poor sperm quality as revealed by reduced sperm binding to hyaluronan-coated slides. *Fertility and sterility* **2010**, *93*, 332-334.
129. Palmer, N.O.; Bakos, H.W.; Fullston, T.; Lane, M. Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis* **2012**, *2*, 253-263.
130. Aggerholm, A.S.; Thulstrup, A.M.; Toft, G.; Ramlau-Hansen, C.H.; Bonde, J.P. Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? *Fertility and sterility* **2008**, *90*, 619-626.
131. Kerr, J.B.; Millar, M.; Maddocks, S.; Sharpe, R.M. Stage-dependent changes in spermatogenesis and sertoli cells in relation to the onset of spermatogenic failure following withdrawal of testosterone. *The Anatomical record* **1993**, *235*, 547-559.
132. Kley, H.K.; Deselaers, T.; Peerenboom, H.; Krüskemper, H.L. Enhanced conversion of androstenedione to estrogens in obese males. *J Clin Endocrinol Metab* **1980**, *51*, 1128-1132.
133. Caprio, M.; Isidori, A.M.; Carta, A.R.; Moretti, C.; Dufau, M.L.; Fabbri, A. Expression of functional leptin receptors in rodent leydig cells. *Endocrinology* **1999**, *140*, 4939-4947.

134. Shiraishi, K.; Takihara, H.; Matsuyama, H. Elevated scrotal temperature, but not varicocele grade, reflects testicular oxidative stress-mediated apoptosis. *World journal of urology* **2010**, *28*, 359-364.

9.2. Saját közlemények



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK224//2020.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Szűcs Miklós

Neptun kód: GWW6YT

Doktori Iskola: Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola. Táplálkozástudományi Doktori Program

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Szűcs, M.**, Osváth, P., Jakab, A., Varga, D., Varga, B., Juhász, B.: Hyaluronan bound mature sperm count (HB-MaSC) is a more informative indicator of fertility than conventional sperm parameters: correlations with Body Mass Index (BMI).
Reproductive Biology. 19 (1), 38-44, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.repbio.2019.02.002>
IF: 1.862
2. **Szűcs, M.**, Osváth, P., Laczkó, I., Jakab, A.: Adequacy of hyaluronan binding assay and a new fertility index derived from it for measuring of male fertility potential and the efficacy of supplement therapy.
Andrologia. 47 (5), 519-524, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/and.12296>
IF: 1.441

További közlemények

3. Riesz, P., Rusz, A., **Szűcs, M.**, Majoros, A., Nyírády, P., Keszthelyi, A., Szűcs, M., Mavrogenis, S., Filkor, G., Pánovics, J., Romics, I.: A merevedési zavar megelőzése és kezelésének lehetőségei radikális prostatectomia után.
Orv. hetil. 150 (18), 831-837, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2009.28569>
4. Berczi, C., Lőrincz, L., **Szűcs, M.**, Tállai, B., Flaskó, T., Tóth, C.: Percutaneous Endoscopic Ureterolithotomy of Two Different Stones in a Single Session.
J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech. 18 (2), 280-281, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/lap.2007.0054>
IF: 0.912





5. Berczi, C., Tóth, G., Tállai, B., Salah, M. A., **Szücs, M.**, Flaskó, T.: Metachron vesedaganatok kezelésével szerzett tapasztalataink.
Magyar Urol. 19 (2), 97-101, 2007.
6. Tállai, B., Nagy, J., Fornet, B., Tóth, G., **Szücs, M.**, Flaskó, T., Gyarmati, J., Tóth, C.:
Tapasztalataink endorectalis mágneses rezonancia vizsgálattal a prosztatákarcinóma helyi kiterjedésének megítélésében.
Magyar Urol. 18, 211-218, 2006.
7. **Szücs, M.**, Berczi, C., Flaskó, T., Kassai, Z., Tóth, C.: A férfi meddőség esetén alkalmazott tesztoszteron terápia szükségességének megítélése a szérum és ejakulátum tesztoszteronszint vizsgálatának tükrében.
Magyar Urol. 17, 122-126, 2005.
8. Berczi, C., Varga, A., Flaskó, T., Salah, M. A., **Szücs, M.**, Tállai, B., Tóth, C.: A radikális perinealis prostatectomiák eredményessége műtét előtti 20 ng/ml feletti PSA-szint esetén.
Uroonkológia. 2 (3), 67-70, 2005.
9. Farkas, A., Csanádi, G., Tóth, G., **Szücs, M.**, Berczi, C., Varga, A., Tóth, C.: Egészséges fiatal férfi Fournier-gangrénája.
Magyar Urol. 17 (4), 222-228, 2005.
10. Flaskó, T., Tállai, B., **Szücs, M.**, Berczi, C., Salah, M. A., Tóth, C.: Laparoscopus vesetumor-reszekció: tapasztalataink 20 eset kapcsán.
Endosc. Minim. Invazív Ter. 7 (2), 23-26, 2005.
11. Berczi, C., **Szücs, M.**, Orosz, L., Farkas, A., Tállai, B., Tóth, C.: Pyelon- és uréterdaganatok kezelése.
Magyar Urol. 17, 93-97, 2005.
12. Tállai, B., Varga, A., Flaskó, T., **Szücs, M.**, Orosz, L., Tóth, C.: Tapasztalataink mini perkután nephrolithotomiával.
Magyar Urol. 17, 87-92, 2005.
13. Tóth, C., **Szücs, M.**: Veseparechyma-daganatok.
In: Urológia. Szerk.: Tóth Csaba, Medicina, Budapest, 121-126, 2005.
14. **Szücs, M.**, Sümegi, A., Tóth, C.: "Idiopátiás" azoospermia háttérben észlelt Y-kromoszóma mikrodélécio kimutatása.
Magyar Urol. 15, 182-184, 2003.
15. Flaskó, T., Varga, A., Tállai, B., Salah, M. A., **Szücs, M.**, Tóth, G., Tóth, C.: Laparoszko-
pós műtéteinkkel szerzett kezdeti tapasztalataink.
Magyar Urol. 15, 195-202, 2003.
16. Tállai, B., Varga, A., Flaskó, T., **Szücs, M.**, Berczi, C., Salah, M. A., Tóth, C.: Vesetuberkulózis
nehezen felderített esete.
Endosc. Minim. Invazív Ter. 6, 5-10, 2003.





17. Berczi, C., Varga, A., Flaskó, T., **Szűcs, M.**, Tóth, C.: Laparoscopos adrenalectomia ritka urológiai szövödménye.
Magyar Urol. 14 (4), 343-348, 2002.
18. **Szűcs, M.**, Csiszár, P., Csanádi, G., Bazsáné Kassai, Z.: A percutan kétoldali "mapping" herebiopsiák jelentősége az ICSI-re való alkalmasság megítélésében.
Magy. androl. 6, 22-25, 2001.
19. **Szűcs, M.**, Salah, M. A., Tándor, Z., Kovács, J., Csanádi, G.: Percutan mapping biopsia alkalmazása korábban heretumor miatt kezelt azoospermias esetekben.
Endosc. Minim. Invazív Ter. 4 (4), 65-66, 2001.
20. Körösi, T., Barta, C., Rajczy, K., **Szűcs, M.**, Bazsáné Kassai, Z., Kaáli, S. G.: Transport TESE-ICSI: ikerterhesség és szülés hereszövet transzportját követő intracitoplazmatikus spermium injiciálás után.
Magyar Androl. 6, 32-34, 2001.
21. Fehér, J. M., Korányi, L., Nagy, A., **Szűcs, M.**: A retroperitonealis lymphadenectomia szükségessége a klinikai I. stádiumú nem seminomás heretumoros betegeknél.
Magyar Urol. 8, 33-37, 1996.
22. Fehér, J. M., Korányi, L., Flaskó, T., **Szűcs, M.**: Roferon A és Vinblastin terápiával szerzett tapasztalataink vesetumoros betegeknél.
Magyar Urol. 7, 5-9, 1995.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 4,215

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 3,303

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, 2020.07.07.



10. Tárgyszavak

spermiumminőség, BMI, hyaluronsav kötési assay (HBA[®]), hialuronánhoz kötődő érett spermiumok száma (HB-MaSC)

sperm quality, BMI, Hyaluronan Binding Assay (HBA[®]), Hyaluronan Bound Matured Sperm Count (HB-MaSC)

hyaluronsav kötési assay, intracitoplazmatikus spermiuminjekció, férfi infertilitás, intracytoplasmatikus spermium injekcióra kiválasztott, kiegészítő terápia

Hyaluronan Binding Assay, intracytoplasmic sperm injection, male infertility, picked for intracytoplasmic sperm injection, supplement therapy

11. Köszönetnyilvánítás

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Táplálkozás-és Élelmiszertudományi Doktori Iskola egyéni felkészülési hallgatójaként készítettem. Köszönet Prof. Dr. Szilvássy Zoltán, egyetemi tanár, Rektor Úrnak, hogy lehetővé tette a doktori iskolában való részvételt, valamint köszönet témavezetőimnek, Dr. Juhász Béla és Dr. Jakab Attila docens uraknak a munkámban való pótolhatatlan segítségnyújtásért. Külön köszönet illeti meg a DE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet munkatársainak a szakmai és emberi segítségét, valamint a KEK Urológiai és Andrológiai Osztály dolgozóinak odaadó szakmai és baráti támogatását.

Hálával tartozom Dr. Osváth Péternek, Dr. Kiss Ritának, Dr. Varga Balázsnak és Dr. Gesztelyi Rudolfnak a számos alkalommal rám szánt idejük és energiájuk miatt.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Kardos Lászlónak és Karányi Zsoltnak a statisztikai elemzésért, Dr. Laczkó Istvánnak és Dr. Varga Dánielnek a cikkünk írásában való közreműködéséért, Hollós Nórának a korrektúrázás és a kézirat angol nyelvi kérdéseinek áttekintésében végzett nehéz munkájáért és Buglyó Árminnak a fordításokban való segítségéért, valamint Csikos Csabának az ábrák elkészítésében nyújtott segítségéért.

Szeretném továbbá kifejezni legmélyebb megbecsülésemet Prof. Dr. Tóth Csabának, Prof. Dr. Papp Györgynek és néhai Prof. Dr. Huszár Gábornak, amiért motiváltak és inspiráltak, és barátomnak, Dr. Szöőr Balázsnak az útmutatásaiért és a javaslataiért, valamint Dr. Bodnár Tibornak, az Arnika kft. ügyvezetőjének a gyakorlati segítségéért, és Anton Pálnak a hasznos tanácsaiért.

Jelen tanulmány a GINOP-2.3.4-15-2016-00002: „A felsőoktatás és az ipar együttműködése az egészségiparban” című pályázat keretén belül valósulhatott meg. További támogatást a 20428-3/2018/FEKUTSTRAT, valamint a Tématerületi kiválósági program 2019, ED_18-1-2019-0028 iktatószámú támogatási szerződés nyújtottak. A tanulmány alapjául szolgáló kutatás megvalósulását ezen felül az Innovációs és Technológiai Minisztérium által meghirdetett Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Program NKFIH-1150-6/2019 számon támogatta, a Debreceni Egyetem Terápiás célú fejlesztések tématerületi programja keretében.

12. Függelék