

36. OTDK
Biológia Szekció

A blasztociszta fejlődés jellemzői és a humán in vitro fertilizációs kezelések kimenetele közti összefüggések vizsgálata time-lapse technológia alkalmazásával

Készítette:

Zakár Adrienn

Biológus MSc., 3. félév

Küldő intézmény:

ELTE-TTK

Témavezetők:

Dr. Fancsovits Péter

Tudományos főmunkatárs, laborvezető

Semmelweis Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Baross utcai részleg,
Asszisztált Reprodukciós Osztály

Nemes Annamária

Klinikai embrióológus

Semmelweis Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Baross utcai részleg,
Asszisztált Reprodukciós Osztály



Tartalomjegyzék

Rövidítésjegyzék	2
1. Bevezetés	3
1.1 A korai embriófejlődés áttekintése.....	3
1.2 Az IVF kezelés folyamata.....	4
1.2.1 A petefészekstimuláció és a petesejtnyerés	4
1.2.2 A hagyományos IVF kezelés	5
1.2.3 Az intracitoplazmatikus spermium injektálás	5
1.2.4 Az embriók tenyésztése és beültetése	6
2. Célkitűzések.....	7
3. Anyagok és módszerek.....	8
4. Eredmények és megvitatásuk.....	10
5. Összefoglalás.....	14
Köszönetnyilvánítás	15
Irodalom	16

Rövidítésjegyzék

ICM- inner cell mass/belső sejtsomó
ICSI- intracitoplazmatikus spermium injektálás
IVF- *in vitro* fertilizáció
PN- pronukleusz
TE- trophoctoderma
TLT- *time-lapse* technológia
KIDScore- Known Implantation Data
iDAScore – Intelligent Data Analysis

1. Bevezetés

Meddőségről akkor beszélünk, ha egy párnál 12 hónap rendszeres, fogamzásgátlás mentes házasság után sem jön létre terhesség. Világszerte a reprodukív korú párok 8-12%-a érintett (*Vander Borgh & Wyns, 2018*). A meddő párok esetében körülbelül 85%-ban azonosítható a meddőség oka, mely lehet férfi és női faktor is, egyes esetekben mindkettő fennállhat. A meddőség leggyakoribb okai az ovuláció elmaradása, a petevezetők elzáródása, illetve a spermiumok alacsony mennyisége és minősége. A meddő párok fennmaradó 15%-a ismeretlen eredetű meddőségben szenved. Az életmód és a környezeti tényezők, például a dohányzás és az elhízás is hátrányosan befolyásolhatja a termékenységet (*Carson és Kallen, 2021*).

1978-ban világra jött a világ első „lombik bébije” (*Dow, 2019*). Azóta az *in vitro* fertilizációs (IVF) kezelésekből több millió gyermek született világszerte, az Egyesült Államokban és Európában az összes születés 1-3%-a IVF kezelés eredménye (*Eskew és Jungheim, 2017*). A mai napig rohamosan fejlődik a technika, egyre kifinomultabb módszerek állnak rendelkezésre: képesek vagyunk akár egyetlen spermiumot közvetlenül a petesejtbe juttatni, a fejlődő embriókat az inkubátorban megfigyelni egy beépített kamera segítségével, mellyel a legnagyobb beágyazódási esélyű embriót tudjuk kiválasztani. Ebben jelenleg mesterséges intelligencia is a segítségünkre van.

1.1 A korai embriófejlődés áttekintése

Az IVF kezelés bemutatása előtt tekintsük át a korai embriófejlődés folyamatát. A kezelés során biztosítjuk, hogy az ivarsejtek találkozzanak, és a petesejt megtermékenyüljön. A normál megtermékenyítés jele a második sarki test kiválása, valamint az anyai és apai pronukleuszok megjelenése. Ezek a megtermékenyítés másnapjára eltűnnek, majd megkezdődik a sejtosztódás, a zigóta barázdálódása. Az embrió több osztódáson megy keresztül, melyek során a mérete nem változik, de az azt alkotó sejtek száma nő, térfogatuk csökken. A barázdálódás során megjelenő sejtek a blasztomérák. Az osztódás eleinte viszonylag lassú, így a megtermékenyítést követő első napon az embrió 2 sejtből, a második napon 4 sejtből, a harmadik napon pedig 8 sejtből áll. A negyedik napon az embrió 16-32 sejtből áll, ezt az állapotot nevezik morula, azaz szedercsíra állapotnak (*Magli et al., 2012*). Ebben a stádiumban a morula egy kompaktálódásnak nevezett folyamaton megy keresztül, mely során a blasztomerek sejtkapcsoló struktúrákkal szorosabban illeszkednek egymáshoz, így a morula

felülete simává válik. A kompaktálódás körülbelül a 32 sejtetes stádiumban fejeződik be, amikor az embrió elkezd blasztocisztává (blasztula, hólyagcsíra állapotúvá) válni. Ezt a blasztomerek polarizálódása kíséri, a külvilág felé néző apikális membrán és a többi, sejt felé forduló bazolaterális membrán különböző tulajdonságokat szerez. A külső sejtek differenciálódnak és ellaposodnak, E-kadherin molekulák révén fokozódik az egymáshoz való tapadásuk. A belső sejtek apolárisak maradnak. Megjelenik több, kisebb folyadékkal telt üreg, melyek végül összeolvadnak és kialakul a blasztocöl. A belső sejtek gömb alakúak maradnak, az egyik pólusra kerülnek, és belső sejtsomóvá (ICM) válnak, míg a külső sejtek a trophektodermát (TE) hozzák létre. A beágyazódás után az ICM-ből a magzatot és extraembrionális struktúrákat felépítő sejtek jönnek létre, míg a TE a méhlepény kialakulásához járul hozzá. Körülbelül öt nappal a megtermékenyítés után az embrió növekedni kezd, expandált blasztocisztává válik, az öt körülvevő *zona pellucida* elvékonyodik, majd a hatodik napon átszakad, az embrió „kibújik” belőle (hatching), és készen áll a beágyazódásra (*Textbook of Clinical Embryology*, 2013).

1.2 Az IVF kezelés folyamata

Az IVF kezelést számos orvosi vizsgálat előzi meg, elvégzésének több indoka mellett, a legfontosabbak a mindkét oldali lezárt petevezetők, vagy azok teljes hiánya, illetve a súlyos andrológiai eredetű meddőség. A kezelés célja, hogy biztosítsa az ivarsejtek szervezeten kívüli találkozását, az embrió kialakulását, fejlődését, majd a méhüregbe való visszaültetését (*Urbancsek és Fancsovits*, 2017).

1.2.1 A petefészekstimuláció és a petesejtnyerés

A kezelés első lépése a petefészkek hormonstimulációja, melynek célja, hogy egy ciklus alatt több petesejt is megérjen, így biztosítva több embrió egyidejű létrejöttét, ezzel növelve az eljárás sikerességének esélyét. A stimulációs eljárásra több prokoll is létezik, de ezek tárgyalása nem ezen dolgozat témája. A stimulációt folyamatos vérvételes ellenőrzés mellett végzik, a fejlődő tüszőket pedig ultrahangos megfigyelés alatt tartják. Ennek oka, hogy az érett tüszők meghatározott időablakban kerüljenek leszívásra: a petesejteknek a leszívás idejében el kell érniük a megtermékenyítésre alkalmas érettségi állapotot, viszont a leszívásnak a spontán tüszőrepedés előtt kell megtörténnie. A petesejtnyerés műtéti eljárás, rövid intravénás altatás alatt történik. A nőgyógyász hüvelyi ultrahangfejre erősített punkciós tű segítségével az összes érett tüszőt leszívja. A leszívott tüszőfolyadék a benne található petesejtekkel ezután az

embriológiai laboratóriumba kerül, ahol a petesejtek keresése, adott esetben érettségének meghatározása történik (*Urbancsek és Fancsovits, 2017*).

1.2.2 A hagyományos IVF kezelés

A petesejtnyeréssel egyidőben a pár férfitagja ondómintát ad, melyet az andrológiai laboratóriumban dolgoznak fel. Makroszkópos vizsgálat során meghatározzák a minta mennyiségét és pH-ját, illetve az elfolyósodás időtartamát. Ezután mikroszkópos vizsgálattal megállapítják a spermiumok koncentrációját, morfológiáját, agglutinációját és mozgásuk irányát. A mintában egyéb sejtek megjelenése, például spermiumfejlődési előalakok, vörös- vagy fehérvérsejtek megjelenése a herék kóros elváltozására, gyulladására utalhat. A vizsgálat eredménye alapján dönt az embriológus a minta feldolgozási módjáról és felhasználási lehetőségeiről. (*Urbancsek és Fancsovits, 2017*).

A feldolgozás során kinyerik a mintában található jól mozgó spermiumokat. Normál vagy mérsékelten csökkent spermaparaméterek esetén a minta alkalmas hagyományos IVF kezelésre. Ebben az esetben a leszívásra került petesejteket rövid inkubálást követően fertilizációs tápoldatba helyezik, majd a hímivarsejteket 300 000 db/ml koncentrációban köréjük pipettázzák, összeszuszpendálják, és együtt inkubálják őket (*Urbancsek és Fancsovits, 2017*).

1.2.3 Az intracitoplazmatikus spermium injektálás

Súlyosan csökkent spermaparaméterek esetén a minta nem alkalmas hagyományos IVF kezelésre. Indokolt esetben lehetőség van a herékből sebészeti úton spermiumokat nyerni (TESE- Testicular Sperm Extraction) (*Rajfer, 2006*).

A spermiumok alacsony száma és rossz motilitása miatt a hagyományos módszerrel való megtermékenyítés hatékonysága rendkívül alacsony lenne. Ezt kiküszöbölve, lehetőség van egyetlen hímivarsejtet közvetlenül a petesejt citoplazmájába injektálni. Ez a módszer az intracitoplazmatikus spermium injektálás (ICSI). A folyamatot mikromanipulátor segítségével végzik. A mikromanipulátor egy mikroszkóppal felszerelt eszköz, képes az emberi kéz milliméteres nagyságrendű mozdulatait mikrométeresre átalakítani. Az eszköz rendelkezik 2 karral, melyekre 1-1 kapillárist erősítenek. Az egyik kapilláris a petesejt rögzítésére szolgál. Ennek vége tompa, átmérője valamivel kisebb, mint a petesejt. A másik, injektáló kapilláris vége hegyes, átmérője akkora, amibe egy hímivarsejt éppen belefér. A kapillárisok egy finoman

szabályozható fecskendőhöz csatlakoznak, amely képes akár pikoliteres mennyiségű folyadékot mozgatni (Urbancsek és Fancsovits, 2017).

A folyamat során a petesejteket előinkubálják és megtisztítják, valamint meghatározzák az érettségüket. Ezután a tartó kapillárisal megtámasztják, majd az injektáló kapillárisal felszívnak egyetlen hímivarsejtet. A hegyes tűvel átlukasztják a petesejtet körülvevő *zona pellucidát*, majd a sejt membránját, és a spermiumot a citoplazmába injektálják. Ez a művelet rendkívüli precizitást és tapasztalatot igényel. Az injektálás során minél kisebb mennyiségű folyadékot kell injektálni, és megóvni a petesejt osztódási orsóját (Urbancsek és Fancsovits, 2017).

1.2.4 Az embriók tenyésztése és beültetése

A termékenyítés után az embriók inkubátorba kerülnek. A tenyésztési körülmények rendkívül fontosak az embriók normál fejlődése szempontjából. Bár jól viselik a környezeti értékek ingadozását egy bizonyos mértékig, a szuboptimális környezet csökkentheti az életképességüket, ezért törekedni kell az optimális környezet megteremtésére és fenntartására. Fontos a tápoldat összetétele, pH-ja, a hőmérséklet, az oxigén és szén-dioxid szint, valamint a steril környezet biztosítása. Manapság elterjedtek a több, külön szabályozható rekeszekből álló inkubátorok, amelyek biztosítják az állandó környezetet amellet, hogy az embriók könnyen hozzáférhetőek, 1-1 embrió kiemelése nem zavarja meg a többiek fejlődését. A tenyésztés egyszer használatos, steril edényekben történik. Az embriók lehetnek külön tápoldatcseppekben, vagy egy páciens több embriója kerülhet egy mikrovájatokat tartalmazó edénybe, közös tápoldatba (1.ábra). Ebben az esetben a kiválasztott anyagaik által befolyásolhatják egymás fejlődését (Urbancsek és Fancsovits, 2017).



1. ábra Embriótenyésztő edény (vitrolife.com)

A megtermékenyítéstől a beültetésig az embriók folyamatos ellenőrzés alatt vannak. A vizsgálatok célja, hogy a leoptimálisabban fejlődő embrió kerüljön végül kiválasztásra és beültetésre. Figyelik a pronukleuszok és sarki testek megjelenését, az osztódás ütemét, szabályosságát, a keletkező sejtek méretét és alakját, a fragmentumok és vakuólumok meglétét, vagy hiányát. A folyamatos megfigyelés azért is fontos, mert lehet, hogy egy harmadik napon szabályosnak tűnő embrió az első napon kóros megtermékenyülést mutatott, nagy valószínűséggel hibás kromoszómakészlettel rendelkezik, így semminképpen sem kerülhet beültetésre (*Urbancsek és Fancsovits, 2017*).

Az embriók beültetésére sor kerülhet a második vagy harmadik, illetve az ötödik napon. Az időpont meghatározásánál figyelembe kell venni a rendelkezésre álló embriók számát. Kevés normál megtermékenyülésű embrió esetében nincs értelme várni, így ezeket már a második vagy harmadik napon beültethetik. Több rendelkezésre álló embrió esetén érdemes megvárni a blasztocisztává válásukat, hiszen ilyenkor több információval rendelkezünk, és ki tudjuk választani a legnagyobb életképességűt, amelyik a legnagyobb valószínűséggel fog beágyazódni és egészséges gyermek születéséhez vezetni. A beültetésre kerülő embriók számát több tényező befolyásolja, például a pár nőtagjának életkora, korábbi sikertelen kezelések száma vagy az embriók minősége. Az IVF kezelések célja minden esetben 1 egészséges gyermek születése, így bár több embrió beültetése jelentősen növeli a terhességi arányt, fennáll az ikerterhesség kockázata, amely gyakran veszélyeztetett terhességet eredményez, így ez amennyire lehet, kerülendő. Kettőnél több embrió beültetését nemzetközi irányelvek nem javasolják. Több embrió esetében lehetőség van a be nem ültetettek fagyasztására, a hosszabb ideig való tárolásukhoz. A kiválasztott embriót katéter segítségével kis mennyiségű tápoldattal együtt a méhszájon keresztül juttatják a méh üregébe (*Urbancsek és Fancsovits, 2017*).

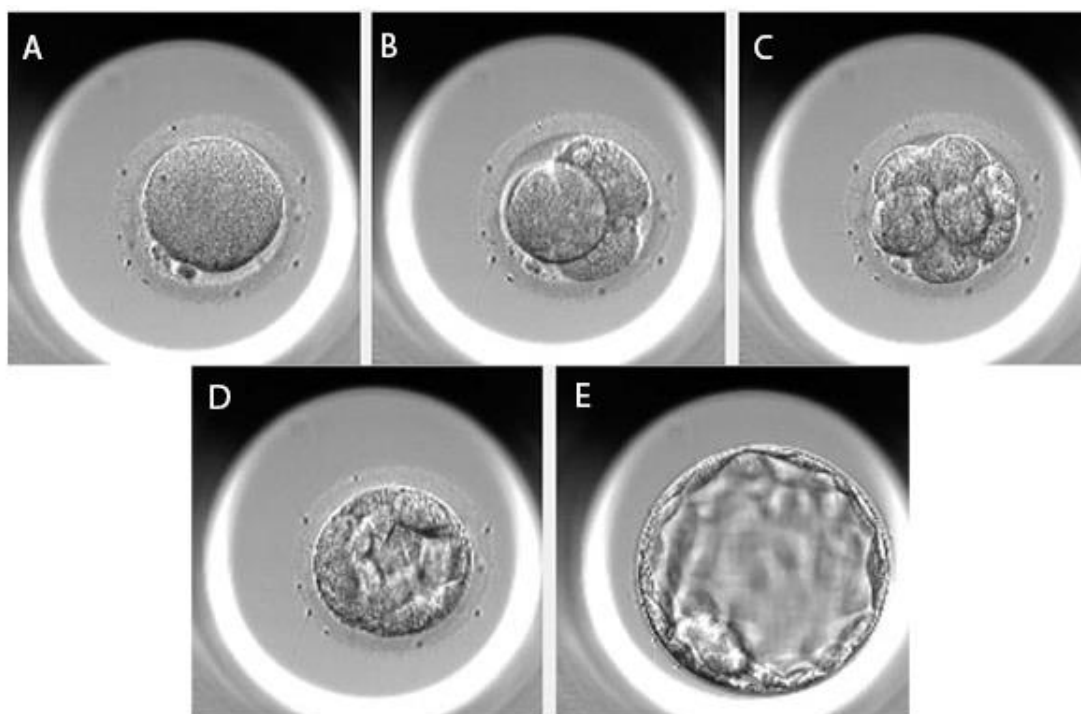
2. Célkitűzések

A tanulmány célja, hogy az in vitro fertilizációs kezelések során beültetésre váró embriók kiválasztásához új szelekciós paramétereket keressünk TLT segítségével. Megvizsgáljuk, hogy a blasztociszta stádiumú embriók morfológiai jellemzői, különös tekintettel az embrió átmérője, valamint az embriócsomó méretei milyen összefüggésben állnak a beágyazódás esélyével.

3. Anyagok és módszerek

Kutatásom során a Semmelweis Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika Baross utcai részlegének Asszisztált Reprodukciós Osztályán 2021-ben végzett IVF kezeléseiből származó embriók fejlődését vizsgáltam. A tanulmányba azon kezelésekből származó embriók kerültek beválasztásra, melyek a beültetés napjára elérték az expandált blasztocisza állapotot, a ciklus során csak 1 embrió került beültetésre, és ismertük a beágyazódási és terhességi kimeneteket. Nem volt feltétel a megtermékenyítés módja, a házaspár nőtagjának életkora, a meddőség oka, és hogy hány korábbi kezelése volt az adott párnak.

Az vizsgált embriókat a megtermékenyítést követően time-lapse technológiát (TLT) alkalmazó inkubátorba helyezték, melyben található egy kamerával felszerelt fénymikroszkóp, ami meghatározott időnként felvételt készít róluk. A készülék segítségével információt nyerhetünk az embriók fejlődéséről 5-10 perces időintervallumokban. A TLT előnye a hagyományos, 2-5 statikus időpontban (naponta egyszer) végzett megfigyeléssel szemben, hogy itt embrióként, az 5 napos tenyésztési periódus alatt körülbelül 1000 képet kaphatunk róluk, több fókuszszíkból, így folyamatosan követhetjük az embriók fejlődését (2. ábra) (*Pribenszky et al., 2017*).



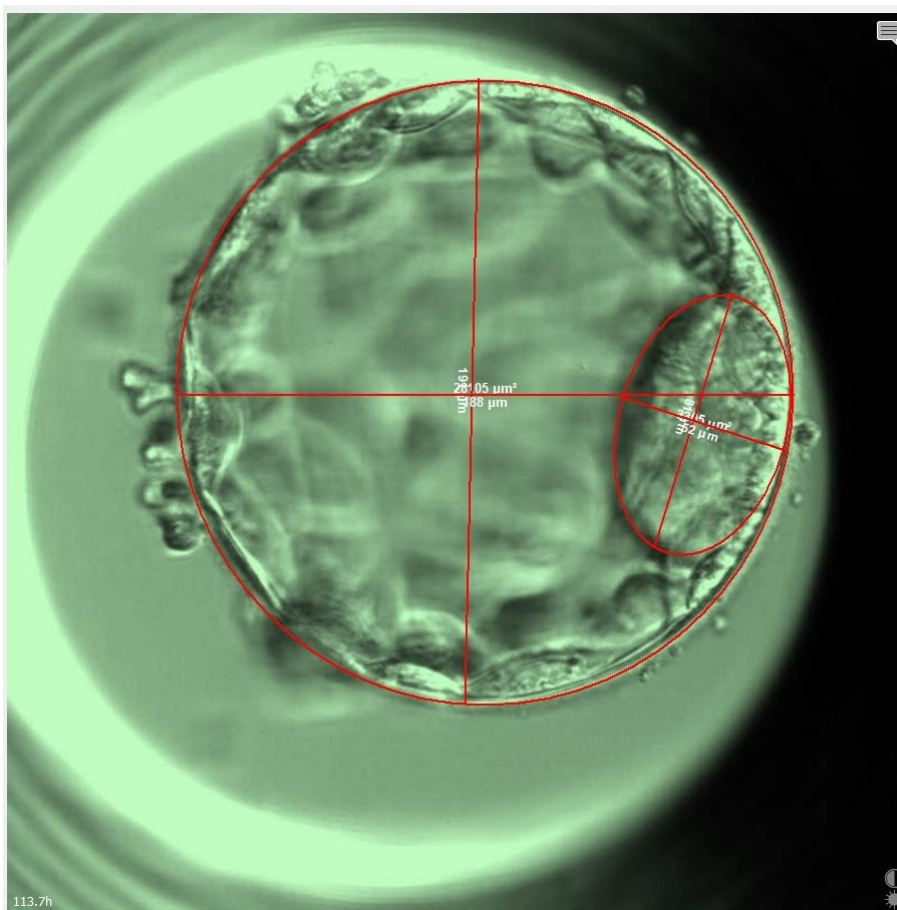
2. ábra Az EmbryoScope által készített felvételek sorozata egy embrió fejlődéséről (saját ábra) A képek készítésének ideje: A) 24 óra, B) 48 óra, C) 72 óra, D) 96 óra, E) 110 óra

Az osztályon alkalmazott készülék a Vitrolife EmbryoScope+ (Vitrolife EmbryoScope® Time-lapse System, Göteborg, Svédország), amelyhez az embriók fejlődését értékelő elemző szoftver, az EmbryoViewer (Vitrolife, Göteborg, Svédország) tartozik. A szoftver az EmbryoScope által készített képeket felismeri, kiértékeli, és becslést ad az embriófejlődés meghatározott paramétereire. Ezek közül az általam vizsgáltak a pronukleusz eltűnési ideje (tPNf), a kétsejtes (t2), a négysejtes (t4), a nyolcsejtes (t8) állapotok megjelenéséhez szükséges idő, valamint a blasztociszta állapot eléréséhez szükséges idő(tB) voltak.

Mindezek mellett, a szoftver egy, a gyártó által, több ezer ismert beágyazódási státuszú embrió jellemzőit figyelembe véve fejlesztett algoritmus segítségével becslést ad a beágyazódás valószínűségére. Ez a pontérték a KIDScore. Emellett mesterséges intelligencia is elemzi az embriókat, amely objektíven és megbízhatóan bírálja el a fejlődés egyes lépéseit, összehasonlítja más hasonló fejlődést mutató, ismert beágyazódású embrióval, és kiválasztja a legnagyobb beágyazódási valószínűségűt, ezzel segítve az embriológusok munkáját. Az így kapott pontérték az iDAScore. A KIDScore tehát az embriológus által megadott időértékeket és morfológiai paramétereket használja, míg az iDAScore esetében pedig a számítógép mesterséges intelligenciája emberi beavatkozás nélkül felismeri és értékeli az embriófejlődés ütemét és a morfológiai jellemzőket (*Ueno et al., 2021*). Vizsgálatom során ezeket a pontértékeket is figyelembe vettem.

Az embriókat az EmbryoScope által készített felvételek segítségével vizsgáltam. Az általam végzett mérésekhez az EmbryoViewer szoftver beépített ellipszis és egyenes rajzoló funkcióját használtam. A méréseket a megtermékenyítés után 112 és 116 óra között végeztem. Ellipszist használtam a blasztociszták és az ICM legnagyobb keresztmetszetben mért területének mérésére és egyenest az átmérők meghatározására (3. ábra). A saját méréseimen kívül vizsgáltam a sejtosztódások ütemét, és a mesterséges intelligencia által számolt, a beágyazódás valószínűségét becslő pontértékeket. Az így kapott adatokat összevetettem a sikeresen beágyazódott (T+) és be nem ágyazódott (T-) embriók esetében. A T+ csoportba kerültek azok az embriók, ahol a beültetés után klinikai terhesség következett be, vagyis ultrahangvizsgálattal igazolták a petezsák meglétét. A T- csoportba azok az embriók kerültek, ahol nem jött létre klinikai terhesség.

Az adatok kiértékeléséhez a Microsoft® Excel (Microsoft 365, verziószám: 16.65) és a Statistica (TIBCO Software Inc., verziószám: 14.0.1.25) programokat használtam, és t-próbákat végeztem $p=0,05$ szignifikanciaszint mellett.



3. ábra Az embrió mérése (saját ábra) Az embrióra illesztett ellipszissel és egyenesekkel mértem a blasztociszta és ICM legnagyobb keresztmetszetben mért területét és átmérőjét

4. Eredmények és megvitatásuk

Munkám során 102 embriót vizsgáltam. A petesejtnyerésen átesett nők életkora átlagosan $35 \pm 4,4$ év volt. A 102 kezelésből 58 esetben jött létre terhesség (56,9%), mely 48 esetben vezetett klinikai terhességhez (47,1%). Az adatelemzésnél csak a klinikai terhességet vettük figyelembe. Indukált vagy spontán vetélés következett be 9 klinikai terhesség esetében (8,8%, a klinikai terhességek 18,8%-a). A klinikai terhességek közül 39 vezetett szüléshez (38,2%, a klinikai terhességek 81,3%-a).

A vizsgált embriók legnagyobb keresztmetszetében, ellipszissel mért területe $2220 \mu\text{m}^2$ és $42616 \mu\text{m}^2$ között változott (átlag $\pm$ szórás = $23572 \pm 7662,4$). Az ICM területe $1282 \mu\text{m}^2$ és $6072 \mu\text{m}^2$ között alakult (átlag $\pm$ szórás = $2968 \pm 891,9$). Az ICM/blasztociszta területek aránya 0,037 és 0,314 között mozgott (átlag $\pm$ szórás = $0,133 \pm 0,06$). A blasztociszta átmérő $125 \mu\text{m}$ és $223 \mu\text{m}$ között volt (átlag $\pm$ szórás = $157 \pm 20,3$). Az ICM átmérő $27 \mu\text{m}$ és $89 \mu\text{m}$ között

volt (átlag $\pm$ szórás= $57 \pm 14,8$). Az ICM/blasztociszta átmérők aránya 0,15 és 0,66 között volt (átlag $\pm$ szórás= $0,38 \pm 0,12$). A KID-Score 3,4 és 9,8 között (átlag $\pm$ szórás= $7,3 \pm 1,5$), az iDAScore 5,9 és 9,9 között alakult (átlag $\pm$ szórás= $8,95 \pm 0,7$) (1. táblázat).

102 vizsgált embrió	Min. és Max.	Átlag és szórás
Blasztociszta terület (μm^2)	2220 és 42616	23572 ± 7662
ICM terület (μm^2)	1282 és 6072	2968 ± 892
ICM/blasztociszta terület arány	0,037 és 0,314	$0,133 \pm 0,06$
Blasztociszta átmérő (μm)	125 és 223	$157 \pm 20,4$
ICM átmérő (μm)	27 és 89	$58 \pm 14,8$
ICM/blasztociszta átmérő arány	0,15 és 0,66	$0,38 \pm 0,12$
KIDScore	3,4 és 9,8	$7,3 \pm 1,5$
iDAScore	5,9 és 9,9	$8,95 \pm 0,7$

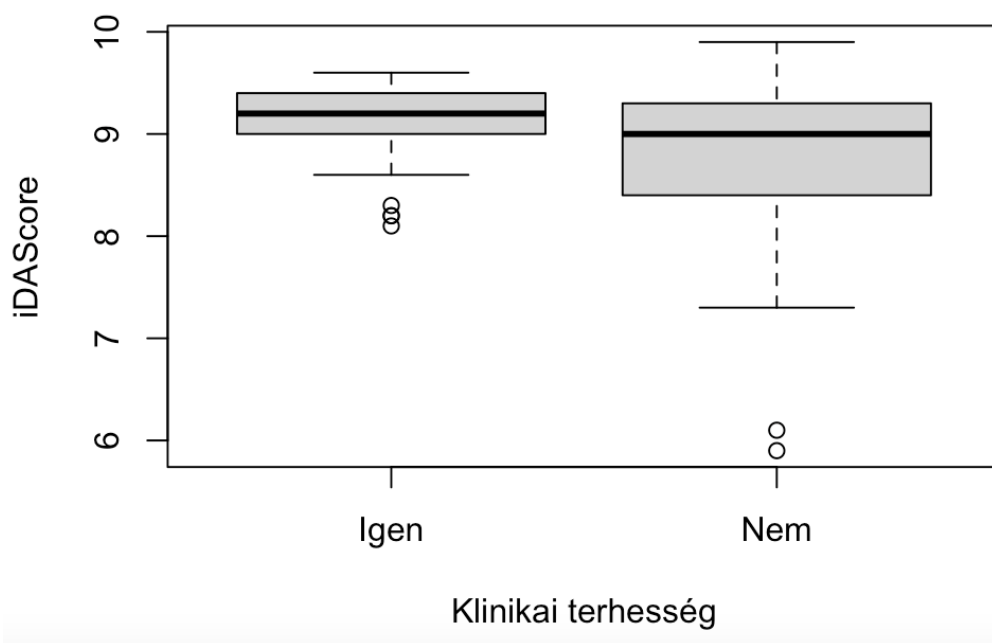
1. táblázat A vizsgált embriók paramétereit (minimum és maximum értékek, átlag $\pm$ standard szórás)

A klinikai terhességet eredményező (T+) és nem eredményező (T-) embriók összehasonlítása során nem találtam szignifikáns különbséget az általam mért paraméterekben a két csoport között (2. táblázat). Richter és munkatársai korábbi kutatása azt mutatta, hogy erős összefüggés van az ICM mérete és alakja, és az embrió életképessége között (*Richter et al., 2001*). Ők azt találták, hogy $4500 \mu\text{m}^2$ -nél nagyobb ICM-mel rendelkező embriók beágyazódási aránya majdnem kétszerese a kisebb ICM-mel rendelkező embriókéénál, viszont ebben a tanulmányban még nem TLT-t alkalmaztak. A mi eredményeinkben bár kirajzolódott egy tendencia, mely azt mutatja, hogy a sikeresen beágyazódott embriók esetében blasztociszta és ICM területek és átmérők átlaga is magasabb, mint a be nem ágyazódott embriók esetében, ezen megfigyelést további, nagyobb esetszámu vizsgálatokkal tudjuk majd alátámasztani. Almagor és munkatársai az ICM/blasztociszta átmérők arányát vizsgálták, és azt találták, hogy a nagyobb arány szignifikánsan magasabb beágyazódási valószínűséget jelez (*Almagor et al., 2016*). A mi vizsgálatunk azonban nem talált különbséget sem az ICM/blasztociszta átmérők, sem a területek arányában a T+ és T- csoportban.

Saját mérések	T+ (N=48)	T- (N=54)	p
Blasztociszta terület (μm^2)	24349 $\pm$ 7090	22881 $\pm$ 8141	0,337
ICM terület (μm^2)	3069 $\pm$ 977	2878 $\pm$ 806	0,290
ICM/blasztociszta terület arány	0,13 $\pm$ 0,06	0,13 $\pm$ 0,06	0,933
Blasztociszta átmérő (μm)	159 $\pm$ 20,9	154 $\pm$ 18,7	0,184
ICM átmérő (μm)	58 $\pm$ 15,9	57 $\pm$ 13,9	0,573
ICM/blasztociszta átmérő arány	0,38 $\pm$ 0,12	0,38 $\pm$ 0,11	0,997
KIDScore	7,5 $\pm$ 1,5	7,2 $\pm$ 1,6	0,229
iDAScore	9,1 $\pm$ 0,4	8,8 $\pm$ 0,8	0,013

2. táblázat A saját mérések eredményeinek összehasonlítása a beágyazódott (T+) és a nem beágyazódott (T-) embriók esetében (átlag $\pm$ standard szórás)

Az EmbryoViewer szoftver által számolt, a beágyazódás valószínűségét becslő pontértékeket is feltüntettem a 2. táblázatban. Míg a KIDScore esetében a T+ embriók ugyan nem szignifikánsan, de magasabb pontot kaptak, addig az iDAScore esetében ez a különbség szignifikáns volt (9,1 $\pm$ 0,4 vs. 8,8 $\pm$ 0,8, p=0,013) (4.ábra). Annak ellenére, hogy az átlagban nem volt nagy eltérés, a pontok eloszlása látványosan különbözik a két csoport között. A klinikai terhességet eredményező embriók esetében sokkal kisebb a pontok szórása, mint a terhességet nem eredményező embrióknál.



4. ábra Az iDAScore pontértékek eloszlása a klinikai terhességhez vezető és terhességhez nem vezető embriók esetében boxplottal ábrázolva

Morfokinetikai paraméterek	T+ (N=48)	T– (N=54)	p
tPNf (óra)	22,6±2,8	23,0±2,8	0,501
t2 (óra)	25,3±2,9	25,6±2,9	0,540
t4 (óra)	37,1±4,0	37,7±4,6	0,485
t8 (óra)	55,6±7,1	56,6±7,9	0,505
tB (óra)	101,6±5,2	102,4±5,3	0,444

3. táblázat Morfokinetikai paraméterek összehasonlítása a beágyazódott (T+) és a nem beágyazódott (T–) embriók esetében

tPNf: a pronukleusz eltűnés időpontja, t2: kétsejtes, t4: négysejtes, t8: nyolcsejtes (t8) állapot elérésének időpontja, tB: blasztocisztává válás időpontja (átlag ± standard szórás)

A morfokinetikai paraméterek esetében vizsgáltam a pronukleusz eltűnés időpontját (tPNf), a kétsejtes (t2), a négysejtes (t4) a nyolcsejtes (t8), és a blasztocisztává válás (tB) időpontját. Az eredményekből az látszik, hogy a sikeresen beágyazódott embriók osztódásának üteme valamivel gyorsabb volt, de a különbség ennél az esetszámnál még nem bizonyult szignifikánsnak (3. táblázat). Desai és munkatársai több paraméter esetében is azt találták, hogy a beágyazódott embriók szignifikánsan gyorsabb fejlődést mutatnak (*Desai et al., 2014*), azonban sokkal nagyobb esetszámmal dolgoztak, mint mi, így ennek alátámasztásához további, nagyobb elemszámú vizsgálat szükséges.

Összegezve, a dolgozatomban meghatároztam a blasztociszták TLT során objektíven mérhető morfológia jellemzőit, a legnagyobb keresztmetszetben mért térfogatot és átmérőt. Ezek a beágyazódott embriók esetében a szakirodalomnak megfelelően nagyobb értékeket eredményeztek, de a különbség nem volt szignifikáns. Az embriófejlődés ütemét vizsgálva azt találtam, hogy a beágyazódott embriók gyorsabb fejlődést mutattak, de szignifikáns eltérés itt sem volt kimutatható. Ezen megfigyeléseket nagyobb elemszámú vizsgálatokkal tervezzük megerősíteni. A szoftver által számolt, a beágyazódás sikerességét becsülő pontértékek esetében azt találtam, hogy a KIDScore nem, a mesterséges intelligencia által számolt iDAScore viszont előrejelzi a beágyazódás esélyét.

5. Összefoglalás

Humán *in vitro* fertilizációs kezelések során fontos a jó minőségű embriók kiválasztása. Számos módszer és irányelv létezik ennek megállapítására. Napjainkban, a time-lapse technológia (TLT) lehetőséget ad arra, hogy az embriók fejlődését folyamatosan nyomon követhessük.

Munkám során új szelekciós paramétereket kerestem. 102 beültetett embrió fejlődését vizsgáltam TLT segítségével. Vizsgáltam a sejtosztódás ütemét, valamint megmértem az expandált blasztociszták legnagyobb keresztmetszetben mért területét és átmérőjét, a belső sejtcsoport (ICM) területét és átmérőjét, valamint az embriófejlődést elemző mesterséges intelligencia által adott pontértéket (*iDAScore*). A vizsgált paramétereket összevetettem a terhességet eredményező (T+) és terhességet nem eredményező (T-) embriók esetében.

A T+ embriók valamivel gyorsabb fejlődést mutattak a T- embriókkal szemben, illetve az embrió, valamint az ICM méretei is nagyobbak voltak ebben a csoportban, de az eltérés nem volt szignifikáns. Az *iDAScore* értékek a T+ csoportban szignifikánsan magasabbak voltak a T- csoporthoz képest ($9,1 \pm 0,4$ vs. $8,8 \pm 0,8$, $p=0,013$).

Eredményeim a beágyazódó embriók gyorsabb fejlődési ütemére, valamint nagyobb blasztociszta- és ICM méretekre utalnak, de ezen megfigyeléseket további, nagyobb esetszámú vizsgálatokkal tervezzük alátámasztani. A time-lapse felvételek elemzése alapján kalkulált *iDAScore* érték összefügg a beágyazódás várható esélyével, így segítségünkre lehet az embriók életképességének megítélésében.

Köszönetnyilvánítás

A legnagyobb köszönettel témavezetőimnek, Dr. Fancsovits Péternek és Nemes Annamáriának tartozom, akik amellet, hogy lehetőséget biztosítottak számomra, szakmai tudásukkal, időt és energiát nem sajnálva hozzájárultak a dolgozatom elkészítéséhez.

Köszönet illeti a Semmelweis Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika Baross utcai részlegének Assisztált Reprodukciós Osztályán dolgozó minden kedves munkatársat.

Támogatásukért és megértésükért hálával tartozom a családomnak és barátaimnak.

- Almagor, M., Harir, Y., Fieldust, S., Or, Y., & Shoham, Z. (2016). Ratio between inner cell mass diameter and blastocyst diameter is correlated with successful pregnancy outcomes of single blastocyst transfers. *Fertility and Sterility*, 106(6), 1386–1391. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.08.009>
- Carson, S. A., & Kallen, A. N. (2021). Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA*, 326(1), 65–76. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.4788>
- Desai, N., Ploskonka, S., Goodman, L. R., Austin, C., Goldberg, J., & Falcone, T. (2014). Analysis of embryo morphokinetics, multinucleation and cleavage anomalies using continuous time-lapse monitoring in blastocyst transfer cycles. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-54>
- Dow, K. (2019). Looking into the Test Tube: The Birth of IVF on British Television. *Medical History*, 63(2), 189–208. <https://doi.org/10.1017/mdh.2019.6>
- Eskew, A. M., & Jungheim, E. S. (2017). A History of Developments to Improve in vitro Fertilization. *Missouri Medicine*, 114(3), 156–159.
- Magli, M. C., Jones, G. M., Lundin, K., & van den Abbeel, E. (2012). Preface. *Human Reproduction*, 27(suppl_1), i1–i1. <https://doi.org/10.1093/humrep/des229>
- Pribenszky, C., Nilselid, A. M., & Montag, M. (2017). Time-lapse culture with morphokinetic embryo selection improves pregnancy and live birth chances and reduces early pregnancy loss: a meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, 35(5), 511–520. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.06.022>
- Rajfer, J. (2006). TESA or TESE: Which Is Better for Sperm Extraction? *Reviews in Urology*, 8(3), 171.
- Richter, K. S., Harris, D. C., Daneshmand, S. T., & Shapiro, B. S. (2001). Quantitative grading of a human blastocyst: Optimal inner cell mass size and shape. *Fertility and Sterility*, 76(6), 1157–1167. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(01\)02870-9](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(01)02870-9)
- Srinivas, S., Watanabe, T. (2013) Early embryogenesis. In Coward, K., & Wells, D. (Eds.). *Textbook of Clinical Embryology*. (110-112). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9781139192736
- Ueno, S., Berntsen, J., Ito, M., Uchiyama, K., Okimura, T., Yabuuchi, A., & Kato, K. (2021). Pregnancy prediction performance of an annotation-free embryo scoring system on the basis of deep learning after single vitrified-warmed blastocyst transfer: a single-center

large cohort retrospective study. *Fertility and Sterility*, 116(4), 1172–1180.

<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.06.001>

Urbancsek, J., Fancsovits, P. (2017). Szervezeten kívüli megtermékenyítés. In Papp, Z. (Ed.),
A Nőgyógyászat kézikönyve. (338-355). Budapest: Medicina kiadó

Vander Borgh, M., & Wyns, C. (2018). Fertility and infertility: Definition and epidemiology.
Clinical Biochemistry, 62, 2–10.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>