

MALDI képalkotó tömegspektrometria alkalmazásai a reprodukív medicinában

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Dr. Sulc Alexandra

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet

Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola
Molekuláris és celluláris biokémia program



Iskolavezető: Prof. Dr. Gallyas Ferenc
Programvezető: Prof. Dr. Gallyas Ferenc
Témavezető: Dr. Márk László

Pécs, 2025.

1.Bevezetés

1.1. Általános bevezetés

A meddőség egyre súlyosbodó globális probléma, amely a párok mintegy 17,5%-át érinti, és komoly kihatással van a lelki jólétre, az anyagi helyzetre és a társadalmi dinamikára. A termékenységi ráta csökkenésével - főként a fejlett nyugati országokban - az asszisztált reprodukciós eljárások (ART), köztük az in vitro megtermékenyítés (IVF) jelentősége megnőtt, annak ellenére is, hogy egyes csoportok, különösen a római katolikus egyház, nem nézik jó szemmel ezeket.

Hazánkban 2020-tól az állam anyagi segítséget nyújt a gyermekre vágyó, infertilitással küzdő pároknak. Ennek köszönhetően térítésmentesen vehetők igénybe az IVF-kezelések és a hozzájuk kapcsolódó vizsgálatok. Ugyanakkor a megnövekedett igény miatt egyre nagyobb szükség van képzett szakemberekre ezen a szakterületen.

Magyarország termékenységi rátája 2003-ig csökkenő tendenciát mutatott, az utóbbi időben tapasztalható enyhe emelkedést azonban tovább ronthatja a mindkét nemnél megfigyelhető növekvő infertilitási arány. Mivel az esetek majdnem felében (45%) a férfi partner is érintett, elengedhetetlen, hogy a gyermekre vágyó párokat együtt vizsgálják és együtt is kezeljék.

A férfi infertilitáshoz több tényező is hozzájárulhat, mint például here visszértágulat (varicocele), bizonyos elzáródások, fertőzések, genetikai rendellenességek, külső stresszhatások és különböző noxák. Különösen fontos a kezelés átfogó, holisztikus megközelítése, amely nemcsak a tünetek enyhítésére, hanem a páciensek hosszú távú termékenységének javítására és általános jólétére is összpontosít. Ez főként olyan esetekben lényeges, ahol a spermiumok rendellenességének oka ismeretlen.

E kihívások hatékony kezelése kulcsfontosságú, ha csökkenteni akarjuk a meddőség egyre növekvő arányát, és javítani szeretnénk a párok esélyeit arra, hogy gyermekük születhessen.

1.2. Hereszövet és spermatogenezis

A spermatogenezis, azaz a haploid spermatozoonok képződésének folyamata a spermatogóniumokból, a here szemíniferous tubulusaiban megy végbe, és magában foglalja a mitózis, meiózis és spermiogenezis fázisait. A pubertást követően az őssejtek mitotikus aktivitása permanensen fennmarad, ami primér spermatocyták kialakulásához vezet. Ezek meiotikus osztódáson mennek keresztül, melynek eredményeként szekunder spermatocyták, majd végül haploid spermatidák jönnek létre.

A Sertoli-sejtek esszenciális szerepet töltenek be azért, hogy strukturális és metabolikus funkciókat látnak el, szabályozzák a vér-here gátat (zona occludens), valamint elősegítik a spermatozoonok kijutását a szemiferous tubulusok lumenébe. Emellett fenntartják a spermatozoonok integritását az immunrendszertől való védelem és az apoptotikus sejtek felismerése révén. Bizonyos kulcsfontosságú lipidek nélkülözhetetlenek a spermatogenezishez és a membránstabilitás fenntartásához.

Az epididymis, amely caput, corpus és cauda régiókra tagolódik, a spermatozoonok maturációjának és motilitás-nyerésének helyszíne. A lipidtartalom módosulásai ebben a maturációs fázisban következnek be.

Az azoospermia, azaz a spermatozoonok hiánya az ejaculátumban, az infertilis férfiak 10-15%-át érinti. Ez lehet obstruktív vagy non-obstruktív eredetű. A Sertoli cell-only szindróma (SCOS) a non-obstruktív azoospermia gyakori etiológiai faktora, amelyet az ejaculátumban lévő spermatozoonok teljes hiánya jellemez, és gyakran genetikai aberrációkra vagy környezeti noxákra vezethető vissza. A lipidekhez és egyéb konstitutív elemekhez asszociált biomarkerek azonosítása elengedhetetlen a here funkcionális állapotának és fertilitási potenciáljának megítéléséhez, értékeléséhez.

1.3. A foszfolipidek általában

A foszfolipidek (PL-ek) olyan alapvető sejtmembránalkotó amfipatikus molekulák, amelyek kulcsfontosságú szerepet játszanak a sejtek jelátvitelében, anyagcseréjében és patológiájában egyaránt. Korábban főként strukturális komponensekként voltak ismertek, de ma már tudjuk, hogy környezeti szenzorként és az anyagcsere-folyamatok szabályozóiként is funkcionálnak.

A foszfolipidek fő típusai közé tartoznak a glicerofoszfolipidek, mint például a foszfátidsav (PA), foszfátidilkolin (PC) és szfingomielin (SM). Ezek fordulnak elő leggyakrabban. A glicerofoszfolipidek egy poláris fejből állnak, amely két zsírsavhoz kapcsolódik, és szerkezetük a zsírsavak összetétele és elhelyezkedése függvényében változhat.

A szfingomielinek, a szfingolipidek egy alosztálya, egy másik jelentős foszfolipid típus, amely szfingozint és egy zsírsavat tartalmaz. A foszfolipidek sokféleségét olyan tényezők befolyásolják, mint a hidrofób zsírsavláncaik hossza és telítettsége, a hidrofíli fej típusa, és az egyedi struktúrák jelenléte, mint például a plazmalogének, amelyek éter vagy vinil-éter kötésekkel rendelkeznek.

A foszfátidsav, amely kulcsfontosságú prekursor a foszfolipid bioszintézisben, befolyásolja a membrán tulajdonságait és a különböző jelátviteli utakat. Többféle útvonalon keresztül termelődhet, beleértve a lizofoszfatidsav acilálódását és a foszfátidilkolin lebomlását is. A foszfolipid bioszintézis

olyan köztes termékeket foglal magában, mint a diacilglicerol (DAG) és a citidin-difoszfát-DAG (CDP-DAG). Ezeket az átalakulásokat specifikus enzimek segítik elő.

Összességében elmondható, hogy a foszfolipidek molekuláris sokféleséget mutatnak, és létfontosságúak a sejtek szerkezete és működése szempontjából.

1.4. A here lipidanyagcseréje

Korábbi kutatások részletesen vizsgálták a here lipidanyagcseréjének szerepét a férfi termékenységekben. Különös figyelmet fordítottak a foszfolipidekre és az endokannabinoid rendszerre (ECS) az emberi herében. A kutatások során megállapították, hogy a foszfolipidek fontos szerepet játszanak a tesztoszteront termelő Leydig-sejtek szteroidogenezisében, és befolyásolhatják a follikulus-stimuláló hormon (FSH) hatását is. Kísérletek azt mutatták, hogy ha foszfolipáz C enzimmel kezelték a sejteket, az csökkentette az FSH kötődését a receptorához.

A kutatók azt is megfigyelték, hogy az exogén kannabinoidok megzavarhatják a fertilis férfiak saját endokannabinoid rendszerét. Ennek pontos mechanizmusa embereknél még nem teljesen ismert. Az ECS kulcsfontosságú komponenseit, köztük a kannabinoid receptorokat és enzimeket, kimutatták a here különböző régióiban, ami arra utal, hogy az ECS kulcsszerepet játszik a spermiumok képződésében és a Leydig-sejtek működésében.

Érdekes megfigyelés, hogy a herében lévő éretlen spermiumok több foszfolipidet tartalmaznak, és lipid összetételük is eltér a már érett, ejakulált spermiumokétól. Ebből következik, hogy a lipidek nélkülözhetetlenek a spermiumok megfelelő fejlődéséhez és működéséhez.

1.5. A lipidek szerepe a női reproduktív traktusban

Az uterusban található arachidonsav (AA) körülbelül 93%-a foszfolipidekben tárolódik, elsősorban foszfatidilkolinban (PC), foszfatidiletanolaminban (PE) és trigliceridekben (TG). Az arachidonsavat a foszfolipáz A2 szabadítja fel, és a ciklooxygenáz enzimek alakítják át prosztaglandinokká (pl. PGI₂, PGE₂, PGF₂α), amelyek kulcsfontosságúak az ovuláció, a megtermékenyítés, a beágyazódás és a decidualizáció folyamatában. Figyelemre méltó, hogy a prosztaciklin (PGI₂) elősegíti a beágyazódást és a decidualizációt a peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor (PPARβ/δ) aktiválásán keresztül, beindítva a sejtproliferációt és az angiogenezist, amelyek létfontosságúak a korai embriogenezis során.

A lizofoszfatidsav (LPA) a beágyazódás mellett a blasztociszták uteruson belüli elhelyezkedését is befolyásolja, feltehetően a miometrium összehúzódása révén. Az ösztrogén és progeszteron által

szabályozott G-protein-kapcsolt receptor (LPAR3) expressziója különösen magas a beágyazódás körüli időszakban, csak úgy, mint a prosztaglandin-szintézis. Ehhez az LPAR3 közvetetten hozzájárulhat a COX-2 enzim működésének fokozásával. Ez a két említett jelátviteli útvonal nagyon szoros kölcsönhatására utal.

1.6. Tömegspektrometria

1.6.1. A tömegspektrometria háttere

A tömegspektrometriai mérés folyamata három fő lépésből áll. Először a mintából gáz halmazállapotú ionokat hozunk létre (ionforrás). A következő lépésben ezeket az ionokat szétválasztjuk tömeg/töltés arányuk (m/z) szerint (analizátor). Végezetül detektáljuk a szétválasztott ionokat (detektor).

A tömegspektrométer fő részét képezi az ionforrás, az analizátor és a detektor, amelyekhez szükséges nagy vákuumot (10^{-4} – 10^{-7} mbar) turbomolekuláris szivattyú és elővákuum biztosít. Fontos, hogy az ionok ne érintkezzenek levegővel az útjuk során a készülékben, hogy megtartsák töltésüket és pályájukat.

A mérések során általában pozitív ionizációs módot használunk, olyan technikákkal párosítva, mint az elektropray ionizáció (ESI) vagy a mátrix-segített lézer deszorpciós ionizáció (MALDI). A leggyakrabban alkalmazott analizátorok közé tartozik a repülési idő analizátor (TOF), az ioncsapda analizátor (IT) és a kvadrupól-repülési idő analizátor (Q-TOF); a detektálást pedig elektronsokszorozó típusú detektorok végzik.

1.6.2. Mátrix-asszisztált lézer deszorpciós ionizáció repülési idő tömegspektrometria

A MALDI módszerrel úgy ionizálódnak a minta molekulái, hogy egy speciális anyagba, úgynevezett mátrixba ágyazódnak, amely elnyeli a lézer energiáját. Ebben a folyamatban a makromolekula-mátrix komplexek egy nagy vákuumba kerülnek, ahol felgyorsulnak. Az ionok detektorig tartó repülési idejéből következtethetünk a tömeg/töltés arányukra - a nagyobb ionok lassabban haladnak, mint a kisebbek. A MALDI képalkotó tömegspektrometria (MALDI-IMS) lehetővé teszi, hogy bonyolult előkészítés vagy jelölés nélkül kétdimenziós képet kapjunk a biomolekulák elhelyezkedéséről. Ez különösen hasznos a klinikai diagnosztikában és a kutatásban, főleg a rákkutatás területén.

A képalkotó tömegspektrometria (IMS) ezen felül alkalmas arra, hogy megvizsgáljuk a lipidek lokalizációját a szövetekben, melynek segítségével tisztázhatjuk a lipidek szerepét a biológiai folyamatokban, lehetővé téve a molekulák részletes feltérképezését is.

2. A kutatás céljai

- Kutatásunk fő célja olyan biomarkerek azonosítása és helyi eloszlásának meghatározása, amelyek egy gyors, a spermatogenezis folyamatára specifikus diagnosztikai eljárás alapját képezhetik.
- MALDI IMS segítségével vizsgáljuk a foszfolipidek eloszlását, összehasonlítva a PC variációkat a normál és SCOS hereszövetek között. Kidolgozunk egy MALDI IMS protokollt a hereszövetek elemzéséhez, beleértve a hisztológiai előkészítést, mátrixszal történő bevonást és a tömegspektrometriás méréseket. Méréseink a spermatogenezis és a patológiás folyamatok szempontjából kulcsfontosságú lipid molekulákra irányulnak.
- Kutatásunk célja, hogy feltárjuk a Johnsen pontozási rendszer és a here foszfolipid expressziója közötti lehetséges összefüggéseket az SCOS betegek esetében.
- Tervezzük a természetes úton és IVF-fel fogant embriók és uterus szövetek MALDI- IMS elemzését, a korai embrionális lipidváltozások időbeli és térbeli megfigyelését.

3. Anyagok és módszerek, műszerezettség

3.1. Humán hereszövetek

Olyan azoospermiás hereszöveget elemeztünk, melyek szövettani eredményei a Johnsen pontozási rendszer alapján (1-10) 2 és 6-10 közé estek, vagyis a normál vagy enyhén károsodott spermatogenezist mutató és a Sertoli cell-only szindrómás minták szövettani kiértékelését végeztük el. Összesen 12 mintát elemeztünk. Ezek közül a szövettani vizsgálatok alapján három normál/enyhén károsodott spermatogenezist mutatót (Johnsen pontszám 6-10), és kilenc Sertoli cell-only szindrómát (SCOS, Johnsen pontszám 2).

3.2. Állati uterus szövetek

Összesen 54 azonos korú nőstény CD-1 egeret véletlenszerűen két csoportba osztottunk. A petesejtérés fokozása érdekében a nőstény egerek hormonkezelést kaptak (FSH, LH), majd ezt követően párosítottuk őket. Az első csoport nőstény egereit (IVF csoport) infertilis (vazektomizált) hímekkel, míg a második csoportot (normál terhes) ugyanazon törzs fertilis hímével párosítottuk, hogy álderhességet, illetve terhességet idézzünk elő. Az egereket a terhesség meghatározott napjain eutanizáltuk, majd mintákat gyűjtöttünk az uterus szövetekből mind a terhes, mind az álderhes csoportokból (természetes és beültetett embriók) különböző embrionális szakaszokban.

3.3. Hisztológiai szövetmetszetek

A humán hereszövetekből készült metszeteket sebészi spermiumnyerés útján az Urológiai Klinikáról származó -80°C-on tárolt mintákból állítottuk elő. A feldolgozás során a szöveteket 3%-os karboximetil-cellulóz (CMC) oldatba ágyaztuk, majd Leica UV kriosztát segítségével -23°C-on 15 µm vastagságú metszeteket készítettünk. Ezeket a metszeteket hagyományos patológiai vizsgálatokhoz használtuk fel. A szöveteket Hematoxilin-eozin festést követően 3D Histech Panoramic Desk digitális tárgylemez szkennelvel digitalizáltuk.

Az állati uterus szövetek esetében hisztológiai elemzésekhez 4 µm vastag FFPE (formalinnal fixált, paraffinba ágyazott) metszeteket készítettünk egér uterusból Leica UV kriosztát segítségével. A szövetmetszeteket Hematoxilin-eozinnal festettük meg és 3D Histech Panoramic Desk digitális tárgylemez szkennelvel elemeztük.

3.4. MALDI Képkalkotó Tömegspektrometria

A képkalkotó tömegspektrometria (IMS) integrálja a hisztológiai információkat a tömegspektrometriás képkalkotó technológiával. A friss here - és uterus szövet mintákat -80°C -on tároltuk feldolgozás előtt. A szöveteket 2%-os karboximetil-cellulózba ágyztuk és $15\text{ }\mu\text{m}$ vastagságúra metszettük Leica kriosztáttal -23°C -on, majd indium-ón-oxid (ITO) bevonatú tárgylemezekre helyeztük. Az α -ciano-4-hidroxi-fahéjsav (CHCA) mátrixot 50 felvitel-száritási ciklusban alkalmaztuk egy automatizált piezoelektromos porlasztó készülék segítségével. A 7 mg/mL -es mátrix oldat készítése során a CHCA-t oldottuk 6:4 arányú acetonitril - 0,2%-os vizes trifluorecetsav (TFA) elegyben. A tömegspektrumokat egy Autoflex Speed MALDI TOF/TOF tömegspektrométerrel nyertük pozitív reflektoron módban (m/z 400-tól 3000-ig). A laterális felbontás $50\text{ }\mu\text{m}$ volt, összesen 300 lézerlövessel pozícióként. Az adatgyűjtést és értékelést FlexImaging 3.0 és FlexControl 3.4 szoftverekkel végeztük. A lipidek azonosításához LIFT módot használtunk PSD (forrás utáni bomlás) és CID (ütközés indukált bomlás) fragmentációhoz. ClinProTools speciális tömegspektrumok összehasonlítására alkalmas szoftver segítségével elvégeztük az alapvető statisztikai próbákat, diszkrimináció-elemzést, főkomponens analízist.

3.5. Lipid azonosítás HPLC-MS/MS-sel

A lipidek azonosítására a nem terhes és terhes egerek uterusából származó mikrodisszekciót használtunk. A lipid extrakciót az egér uterusból egy módosított Bligh és Dyer módszerrel végeztük. A szövetmetszeteket homogenizáltuk egy kloroform/metanol/víz (60/30/10 V/V%) extrakciós oldattal, amely 10 ng/mL BHT-t (butil-hidroxitoluol) tartalmazott antioxidánsként. A folyamat magában foglalta a vortexelést, ultrahangos rásegítést és többszörös extrakciós fázisokat a lipid kitermelés maximalizálása érdekében, majd az extraktumokat nitrogén gáz alatt szárítottuk és acetonitril/izopropanol/víz (65/30/5 V/V%) 0,1% hangyasav oldatban oldottuk újra.

A lipid profilokat folyadékkromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometriával (LC-MS/MS) azonosítottuk. Az elemzést egy Dionex Ultimate 3000 HPLC rendszeren végeztük, Q-Exactive tömegspektrométerrel kapcsolva. A kromatográfiás elválasztás során Kinetex C-18 oszlopot használtunk $150\text{ }\mu\text{L/perc}$ áramlási sebességgel és $5\text{ }\mu\text{L}$ mintainjektálási térfogattal. Metanol és víz bináris gradiensét alkalmaztuk a vegyületek elválasztására. Az MS és MS/MS méréseket pozitív ion módban végeztük.

4.Eredmények

4.1. Szövettani eredmények: humán hereszövetek

A normál működésű és SCOS hereszövetek morfológiáját vizsgáltuk. A normál működésű herében teljes spermatogenezist mutató seminiferous tubulusok találhatóak, sok A és B típusú spermatogóniummal (Johnsen pontszám: 8-10), SCOS esetében pedig normál, érett Sertoli-sejtek és fokális involúciós Sertoli-sejtek találhatóak, háromszög alakú sejtmagokkal (Johnsen pontszám: 2).

4.2. Szövettani eredmények: állati uterus szövetek

A normál terhességnél az implantációs zónák és az embriók szimmetrikusan, hozzávetőlegesen azonos távolságban helyezkednek el. Az uterus mindkét szarvában azonos számú embrió növekszik, a spontán vetélések száma minimális.

Ezzel ellentétben az IVF embriók alakja aszimmetrikus, elhelyezkedésük rendezetlenebb, számuk az uterus két felében különböző, a spontán vetelési arány magas.

4.3. MALDI IMS eredmények

4.3.1. Humán hereszövetek

Kutatásunk során MALDI IMS segítségével vizsgáltuk a here foszfolipid összetételét és a lipidek eloszlását. 12 azoospermias beteg (Johnsen pontszám 2-10) szövettani metszeteit elemeztük MALDI IMS-sel.

Pozitív ionmódban kiemelkedő csúcsokat detektáltunk a foszfatidilkolin (PC), szfingomielin (SM) és foszfatidiletanolamin (PE) esetében az m/z 650-900 tartományban.

Vizsgálataink során a protonált kvázi-molekula ionok ($M+H^+$), valamint a nátrium - és kálium adduktok ($M+Na^+$, $M+K^+$) jelenlétét detektáltuk. A SM (16:0) és (d18:1/16:0) koncentrációi jelentősen magasabbak voltak a normál spermatogenezist mutató mintákban (Johnsen pontszám 8-10) az SCOS-hoz képest (Johnsen pontszám 2), ahol az SM (d42:0) növekedését figyeltük meg.

Emellett különböző típusú PC-k, LPC-k és diacyl PC-k differenciált eloszlását figyeltük meg a Johnsen pontszámok alapján. Ezekből magasabb mennyiségeket találtunk a spermatogenezist nem mutató mintákban. A glicerofoszfatidilkolin eloszlások változásait is azonosítottuk. Fentiekből következtethetünk a lipidek és a spermatogén aktivitás közötti összefüggésre.

A plazmalogének - amelyek fontos éter foszfolipidek a spermiumokban - kulcsfontosságú szerepe is detektálható a spermatogenezisben és a spermium funkcionalitásában.

4.3.2. Állati uterus szövetek

A normál terhesség 6,5. embrionális napján a PC 32:0 növekedését figyeltük meg az uterus stromális sejteiben az implantációs helyeken, kivéve az elsődleges deciduális zónát (PDZ). A PC 34:0, PC 34:1 és PC 34:2 magasabb expressziót mutatott az uterus stromális sejteiben az implantációs helyeken, míg a PC 36:1 és PC 36:2 a PDZ-ben. Ezzel szemben a transzferált embriókban a PC-k növekedést mutattak a mirigyhámban az implantációk közötti területeken.

Normál terhességben a 8,5. napon specifikus foszfatidilkolinok (PC-k) regionális eloszlást mutattak, a PC 32:0, 34:0 és 34:1 emelkedett volt a mezometriális pólusban (M-pólus), míg a PC 34:2, 36:2, 36:4, 38:4 és 40:6 kiemelkedőbb volt az antimezometriális pólusban (AM-pólus). Az IVF mintákban hasonló tendenciát figyeltünk meg, de további PC-k mutattak magasabb expressziót mindkét pólusban.

A 10,5. napra a PC 32:0 volt a legmagasabb mennyiségben a placentában, és több PC (34:1, 34:2, 36:2 és 40:6) emelkedett volt a mezometriális deciduában. Az IVF mintákban megnövekedett expresszió folyamatos változásokat jelzett, a PC 36:2 és 38:4 kifejezett növekedésével az embrió felszívódási helyein az M-pólusban, illetve az AM-pólusban.

5. Megbeszélés

5.1. Humán hereszövetek

Normál működésű és azoospermiás (SCOS) humán hereszövetek lipidomikai jellemzőit vizsgáltuk. MALDI TOF/TOF IMS segítségével elemeztük a foszfolipidek (PL-ek), (beleértve a szfingomielineket (SM) és foszfatidilkolinokat (PC)), térbeli eloszlását azoospermiás hereszöveteken.

A vizsgált lipid fajták térbeli expressziós szintjei jelentősen eltértek a fiziológiás működésű és az SCOS egyének között. Az eredmények jelentős összefüggést mutattak a lipid összetételek és a Johnsen pontozási rendszer között (1-10), amely a spermatogenezis mértékét jelöli.

Megállapítottuk bizonyos egyszeresen - és többszörösen telítetlen diacil-PC fajták csökkenését a súlyos spermatogén károsodást mutató here mintákban (SCOS), a PC (16:0/20:4) emelkedett szintjei mellett. Az SM (16:0) koncentrációi jelentősen alacsonyabbak voltak SCOS-ban a normál spermatogenezishez képest, ami az SM bioszintézis útvonalak zavarára utal. A plazmalogének,

amelyek antioxidatív tulajdonságokkal rendelkeznek, szintén csökkent mértéket mutatnak, ami a megnövekedett oxidatív stresszre utal az SCOS mintákban.

Eredményeink összességében alátámasztják a lipid összetétel és a férfi fertilitás közötti összefüggést, amint azt a Johnsen pontszámok is jelzik. Kutatásunk igazolja a lipidomikai profilozásban rejlő potenciált a férfi meddőség diagnosztizálásában és mélyrehatóbb megértésében.

Eredményeink elősegíthetik a spermiumképző területek azonosítását, potenciálisan növelve a testicularis spermium extrakció (TESE) eljárások sikerességi arányát.

5.2. Állati uterus szövetek

A PC34:1 és PC36:1, amelyek főként olajsavat (OA) tartalmaznak, magas intenzitást mutattak az uterus különböző régióiban a peri-implantációs időszakban mind a normál, mind az IVF terhességekben. Azonban ezen lipidek felhalmozódása eltért a két csoport között. Például a PC 36:1 megfigyelhető volt az IVF terhesség mezometriális deciduájában, de szinte teljesen hiányzott a normál terhességben. Ez a szembetűnő különbség az OA-tartalmú lipidek lehetséges szerepére utal a korai embrionális életben, ami patobiokémiai szerepet játszhat az IVF során történő korai embrionális fejlődésben.

A többszörösen telítetlen zsírsavakat tartalmazó PC-k térbeli és időbeli különbségeket mutattak a peri-implantációs időszakban mindkét csoportban. Figyelemre méltó, hogy a legnagyobb eltéréseket a normál és IVF csoportok között az embrionális 8,5. napon figyeltük meg ezen PC-k (PC36:2, PC36:4, PC38:4 és PC 40:6) intenzitásában.

Eredményeink megerősítik a lipid összetétel peri-implantációs időszakban betöltött szerepét és annak lehetséges hatását az IVF kimenetelére.

Módszerünk elősegítheti az implantációs folyamatok mechanizmusainak mélyebb megértését és a reprodukciós sikerességi arányok növelését célzott lipidomikai módszerek révén.

6. Tézisek

- MALDI IMS protokollt dolgoztunk ki hereszövetek elemzéséhez, mely során olyan jellegzetes foszfolipideket azonosítottunk és lokalizáltunk a herében, melyek alapján a spermatogenezis patológiás vagy normál működésére következtethetünk.
- Az eddigi irodalom alapján elsőként mutattuk ki a Johnsen pontozási rendszer és a foszfolipid expressziók közötti összefüggést Sertoli cell-only szindrómában (SCOS) szenvedő betegek hereszöveiben.
- Tudomásunk szerint mi vagyunk az elsők, akik MALDI IMS segítségével kimutatták és összehasonlították a foszfatidilkolinok szignifikáns változásait IVF modellben a korai embrionális fejlődés során.

7. Köszönetnyilvánítás

A kutatást az RRF-2.3.1-21-2022-00012 azonosítószámú, Humán Reprodukciós Nemzeti Laboratórium megnevezésű projekt támogatta, amely az Európai Unió Helyreállítási és Ellenállóképességi Eszközének támogatásával valósult meg a Széchenyi Terv Plusz program keretében. A projekt támogatást kapott a HUN-REN Magyar Kutatási Hálózattól is.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Márk Lászlónak, a témavezetőmnek, és Prof. Dr. Gallyas Ferencnek, a PhD program vezetőjének, hasznos megjegyzéseikért, valamint a cikkem és disszertációm átnézéséért.

Köszönöm kollégáimnak, különösen Dr. Gitta Stefániának a segítséget és a baráti támogatást.

Köszönettel tartozom a Humán Reprodukciós Nemzeti Laboratórium andrológiai munkacsoportjának.

Hálás vagyok Horváth Anitának a technikai segítségért, amit tudományos munkám során nyújtott.

Szeretnék köszönetet mondani mindenkinek, akit a fentiekben nem soroltam fel, de hozzájárult a kutatásomhoz.

Végül, de nem utolsósorban hálás vagyok a gyermekeimnek, a szüleimnek, a családomnak a rendületlen támogatásukért.

8. Publikációk listája

8.1. A disszertációhoz kapcsolódó publikációk

- MALDI imaging mass spectrometry reveals lipid alterations in physiological and Sertoli cell-only syndrome human testicular tissue sections

<https://doi.org/10.3390/ijms25158358>

Szerzők: Sulc Alexandra, Czétány Péter, Máté Gábor, Balló András, Semjén Dávid, Szántó Árpád, Márk László

Folyóirat: International Journal of Molecular Sciences, 2024

Impakt faktor: 4,9

Idézettség: 0

- Investigation of phosphatidylcholine by MALDI imaging mass spectrometry in normal and IVF early-stage embryos

<https://doi.org/10.3390/ijms25137423>

Szerzők: Gitta Stefánia, Szabó Éva, Sulc Alexandra, Czétány Péter, Máté Gábor, Balló András, Csabai Tímea, Szántó Árpád, Márk László

Folyóirat: International Journal of Molecular Sciences, 2024

Impakt faktor: 4,9

Idézettség: 0

8.2. Egyéb publikációk listája

- Application of Mass Spectrometry Imaging in Uro-Oncology: Discovering Potential Biomarkers

<https://doi.org/10.3390/life12030366>

Szerzők: Czétány Péter, Gitta Stefánia, Balló András, Sulc Alexandra, Máté Gábor, Szántó Árpád, Márk László

Folyóirat: Life, 2022

Impakt faktor: 3,2

Idézettség: 3

- Histological Study of Some *Echium vulgare*, *Pulmonaria officinalis* and *Symphytum officinale* Populations

<https://doi.org/10.1177/1934578X1100601017>

Szerzők: Papp Nóra, Bencsik Tímea, Németh Kitti, Gyergyák Kinga, Sulc Alexandra, Farkas Ágnes

Folyóirat: Natural Product Communications, 2011

Impakt faktor: 1,37

Idézettség: 4

9. Előadások

- Biospektroszkópia-tömegspektrometria 1:0

Márk László, Sulc Alexandra

XV.Környezetvédelmi Analitikai és Technológiai Konferencia és 63. Magyar

Spektrokémiai Vándorgyűlés

Balatonszárszó, 2024. március 6.-8.

- Spermyter és Andromics: Andrológiai minták multimodális analitikai vizsgálata

Gitta Stefánia, Sulc Alexandra, Márk László

Magyar Andrológiai Társaság XV. Kongresszusa,

Kecskemét, 2023. november 23.-25.

- Molekulák térben és időben: képzőképzési tömegspektrometria alkalmazása a humán reprodukció kutatásában

Márk László, Sulc Alexandra, Gitta Stefánia

Magyar Andrológiai Társaság XIV. Kongresszusa,

Kecskemét, 2022. szeptember 22.-24.

- Lipidomikai változások SCOS hereszövetekben

Sulc Alexandra, Bánkúti Stefánia, Czétány Péter, Balló András, Máté Gábor, Szántó Árpád, Márk László

Magyar Andrológiai Társaság XVI. Kongresszusa

Eger, 2024. november 23.