

# **In vitro fertilizációs programban résztvevők tüszőfolyadékának komplex vizsgálata**

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Kapocsi-Kurdi Csilla**



Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Doktori Iskolavezető: Prof. Dr. Bogár Lajos, egyetemi tanár

Programvezető: Prof. Dr. Miseta Attila, egyetemi tanár

Témavezetők:

Prof. Dr. Kőszegi Tamás, egyetemi tanár

Prof. Dr. Kovács L. Gábor, egyetemi tanár

Pécsi Tudományegyetem, Szentágothai Kutatóközpont, Molekuláris Medicina Kutatócsoport

Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Laboratóriumi Medicina Intézet

Pécsi Tudományegyetem, Humán Reprodukciós Nemzeti Laboratórium

2026

## 1. Bevezetés

A meddőség világszerte egyre növekvő egészségügyi problémát jelent, amely a reprodukzív korban lévő párok körülbelül 10–15%-át érinti. Az asszisztált reprodukciós technológiák (ART) terén elért jelentős előrelépések ellenére a sikeres terhességek arányai továbbra is alacsonyak, ami arra utal, hogy a reprodukzív siker kulcsfontosságú biológiai meghatározói még nem teljes mértékben ismertek.

Az ART kimenetelét befolyásoló tényezők közül a petesejt minősége központi szerepet játszik. A petesejt kompetenciája meghatározza a megtermékenyülés esélyét, az implantációt, a korai embrionális fejlődést és a terhesség sikerét. A genetikai tényezőkön túl a petesejt fejlődési potenciálját jelentős mértékben befolyásolja a follikulogenezis során az azt körülvevő mikrokörnyezet. Ez a mikrokörnyezet biztosítja a petesejt megfelelő éréséhez szükséges metabolikus szubsztrátokat, jelátviteli molekulákat, antioxidánsokat és hormonális szabályozást.

A tüszőfolyadék (TF) a petesejt és a cumulus-petesejt komplex közvetlen biokémiai mikrokörnyezetét képezi. A TF a vérplazma transzudációja révén, a vér-follikulus gát mentén, valamint a granulosa- és thecasejtek aktív szekréciója útján alakul ki. Fontos hangsúlyozni, hogy a TF nem a plazma passzív ultrafiltrátuma, hanem egy szigorúan szabályozott biológiai mátrix, amelynek sajátos molekuláris összetételét szelektív transzportmechanizmusok és lokális, a petefészekben található szabályozó folyamatok alakítják. A TF összetételének megváltozását összefüggésbe hozták a petesejt érésének zavarával, csökkent megtermékenyülési aránnyal, gyengébb embrióminőséggel és sikertelen ART-kimenetekkel. Olyan klinikai állapotok, mint az endometriózis, az inzulinrezisztencia, az elhízás és a pajzsmirigybetegségek, ismerten befolyásolják a follikuláris fiziológiát, és gyakran együtt járnak a TF molekuláris összetételének megváltozásával.

Az eddigi kutatások elsősorban csak egyes TF-beli biomarkerek vizsgálatára összpontosítottak, azonban ezek a kutatások gyakran csak korlátozott információt nyújtanak a follikuláris működés háttérében álló komplex molekuláris kölcsönhatásokról. A follikuláris mikrokörnyezetet fehérjék, lipidek és metabolitok egymással összefüggő hálózatai szabályozzák, amelyek nem jellemezhetők megfelelően csupán egyetlen paraméter elemzésével. Ebben az összefüggésben a proteomikai, lipidomikai és metabolomikai adatokat integráló multi-omikai megközelítések hatékony keretet kínálnak a TF rendszer szintű jellemzésére.

A jelen doktori munka átfogó multi-omikai megközelítést alkalmaz az asszisztált reprodukciós kezelésben részesülő páciensektől származó tüszőfolyadék elemzésére. A proteomikai, lipidomikai és célzott metabolomikai adatok integrálásával a munka célja, hogy mélyebb betekintést nyújtson a follikuláris mikrokörnyezetet formáló molekuláris mechanizmusokba, valamint azonosítsa a reprodukív siker szempontjából releváns potenciális biomarkereket.

## **2. Szakirodalmi áttekintés**

### **2.1. A tüszőfolyadék képződése és szerepe a petesejt fejlődésében**

A TF a fejlődő petesejt közvetlen mikrokörnyezetét alkotja és alapvető szerepet játszik a petesejt növekedésének és megtermékenyítési kompetenciájának szabályozásában. A TF kialakulása szigorúan szabályozott folyamat, amelyben passzív és aktív mechanizmusok egyaránt részt vesznek. A folliculogenezis során a plazma komponensei szelektív transzudáció révén jutnak át a vér–follikulus gáton, miközben a granulosa- és thecasejtek aktívan szekretálnak fehérjéket, lipideket, metabolitokat, hormonokat és növekedési faktorokat a folliculáris antrumba. A vér–follikulus gát központi szerepet tölt be a TF képződésében azáltal, hogy a molekulák transzportját méretük és töltésük alapján szabályozza. Míg a kis molekulák és a vízoldékony metabolitok viszonylag szabadon diffundálhatnak, a nagyobb fehérjék és lipoprotein részecskék transzportja szigorúan kontrollált. A passzív átjutás mellett a granulosa sejtek jelentős mértékben hozzájárulnak a TF összetételéhez a keringő molekulák de novo szintézise és metabolikus átalakítása révén.

A folliculáris fejlődés során a TF összetétele dinamikusan változik, tükrözve a folliculus méretét, a hormonális stimulációt és a petesejt érési folyamatait. Ezek a változások kiterjednek a fehérjék mennyiségére, a lipidfrakciók összetételére, az antioxidáns kapacitásra és a metabolit koncentrációkra is. Ennek megfelelően a TF nem egy statikus folyadék, hanem egy időben és funkcionálisan is dinamikusan változó mikrokörnyezet.

Számos kutatás igazolta, hogy a TF nem a plazma passzív ultrafiltrátuma, hanem valójában egy szigorúan szabályozott biológiai mátrix. A szérum és a TF összehasonlító vizsgálatai kimutatták, hogy egyes fehérjék, lipidek és metabolitok koncentrációja magasabb vagy alacsonyabb a TF-ban, ami rámutat a lokális petefészek-szabályozás jelentőségére. Más kutatásokban a TF összetételének megváltozását összefüggésbe hozták a petesejt minőségének romlásával, csökkent megtermékenyülési aránnyal és kedvezőtlen ART-kimenetekkel is.

### **2.1. A fehérjék szerepe a folliculáris mikrokörnyezetben**

A TF-ban jelen lévő fehérjék számos biológiai folyamatban vesznek részt, beleértve a lipidtranszportot, az immunregulációt, a koagulációt, a proteázgátlást és az antioxidáns védelmet. A TF proteomikai vizsgálatai fő összetevőként az albumint, az apolipoproteineket, a komplementrendszer komponenseit és az akut fázisú fehérjéket azonosították. Ezek a fehérjék hozzájárulnak az ozmotikus egyensúly fenntartásához, a lipidek és hormonok szállításához, valamint a petesejt oxidatív és gyulladásos károsodással szembeni védelméhez.

A közelmúltbeli proteomikai kutatások rámutattak a lipoprotein-asszociált fehérjék, különösen az apolipoprotein A1 és a nagy sűrűségű lipoprotein (high-density lipoprotein, HDL) jelentőségére a folliculáris fiziológiában. A HDL-részecskék az FF fő koleszterinszállítói, biztosítják a szteroidogenezishez szükséges koleszterint, miközben antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatással is rendelkeznek. A HDL-hez társult fehérjék mennyiségének megváltozását összefüggésbe hozták a petesejt érésének zavarával és a lecsökkent megtermékenyülési arányokkal.

## **2.2. A lipid metabolizmus és az oxidatív stressz szerepe a tüszőfolyadékban**

A lipidek alapvető szerepet játszanak a folliculáris fejlődésben, mivel a sejtmembránok strukturális alkotóelemeiként, jelátviteli molekulaként és energiaforrásként is szolgálnak. A foszfolipidek, a szfingolipidek és a koleszterin-észterek a TF legnagyobb mennyiségben jelen lévő lipidcsoportjai közé tartoznak és kiegyensúlyozott arányuk elengedhetetlen a membránfluiditás, a mitokondriális működés és a jelátvitel fenntartásához mind a petesejtekben, mind az őket körülvevő cumulus sejtekben.

Egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy a folliculáris mikrokörnyezetben zajló lipidanyagcsere-zavarok hozzájárulnak az oxidatív stressz és a gyulladós folyamatok kialakulásához, mivel a ceramidok és az oxidált lipidek emelkedett szintje összefüggésbe hozható az apoptózissal, a mitokondriális diszfunkcióval és a petesejt fejlődési kompetenciájának csökkenésével. Ezzel szemben a HDL-hez társult lipidekről kimutatták, hogy védelmet nyújtanak a lipidperoxidációval és az oxidatív károsodással szemben, ami mutatja a lipidtranszport és átalakítás kiemelt jelentőségét a folliculáris folyadékban.

## **2.3. Aminosav metabolizmus a tüszőfolyadékban**

Az aminosavak kulcsszerepet játszanak a petesejt érésében és a korai embrionális fejlődésben, mivel alapvető fontosságúak a fehérjeszintézis, az energia-anyagcsere, a redox-homeosztázis fenntartása és az epigenetikai szabályozás szempontjából. A TF aminosav-összetétele egyaránt tükrözi a szervezet általános anyagcsere-állapotát és a petefészekben található sejtek lokális metabolikus aktivitását is.

Számos tanulmány számolt be a TF-ben található egyes aminosavak koncentrációja és a petesejt minősége vagy az embriófejlődés között. A glicin, a hisztidin és a glutamin fontos szerepet játszanak az antioxidáns védelemben és a nitrogénegyensúly fenntartásában, míg az

elágazó láncú aminosavak az energia-anyagcserével és az inzulinérzékenységgel hozhatók összefüggésbe. A TF aminosavprofiljának megváltozását több olyan anyagcsere- és endokrin kórképekben is leírták, mint az inzulinrezisztencia, az endometriózis és a pajzsmirigy-működési zavarok, amelyek gyakran társulnak csökkent ART-sikerességgel.

#### **2.4. A tüszőfolyadék multi-omikai vizsgálata**

Noha számos kutatás foglalkozott a TF egyes molekuláris összetevőinek vizsgálatával, az egyetlen omikai szintre korlátozódó megközelítések nem képesek teljeskörűen megragadni a folliculáris fiziológia háttérében álló komplex kölcsönhatásokat. A fehérjék, lipidek és metabolitok egymással szorosan összefonódó funkcionális hálózatot alkotnak, így az egyik molekuláris rétegben bekövetkező eltérés gyakran további szinteken is változásokat idéz elő.

A multi-omikai stratégiák ezen összefüggő molekuláris hálózatok együttes elemzését teszik lehetővé és elősegítik a kulcsfontosságú biológiai folyamatok azonosítását az elszigetelt biomarkerek keresése helyett. A TF-n alkalmazott proteomikai, lipidomikai és metabolomikai elemzések így átfogó jellemzést nyújtanak a folliculáris mikrokozmoszról, valamint segítik megérteni a petesejt fejlődési potenciálját és az ART-eredményekben megfigyelhető különbségeket.

### 3. Célkitűzések

Tekintettel arra, hogy a follikuláris mikro környezet meghatározó szerepet játszik a petesejt funkcionális minőségében és az ART kimenetelének alakításában, jelen doktori munka átfogó célja a TF jellemzése integrált multi-omikai megközelítés alkalmazásával. A proteomikai, lipidomikai és célzott metabolomikai elemzések kombinálásával a vizsgálat célja olyan molekuláris mechanizmusok, biológiai útvonalak és potenciális biomarkerek azonosítása, amelyek összefüggésbe hozhatók a reprodukív kimenetellel és a betegség-specifikus eltérésekkel.

A kutatás specifikus célkitűzései a follikuláris mikro környezet egymással összefüggő, ugyanakkor elkülöníthető molekuláris szintjeinek vizsgálatára irányultak.

#### 3.1. Proteomika

- A TF fehérje-összetételének átfogó jellemzése nagyfelbontású folyadékromatográfiához kapcsolt tömegspektrometria (LC-MS/MS) alkalmazásával.
- A fehérjeprofílok összehasonlítása terhes és nem terhes ART-páciensek között, a reprodukív kimenetellel összefüggő fehérjék azonosítása céljából.
- Fehérje-fehérje kölcsönhatási hálózatok felépítése és funkcionális gazdagítási elemzések végzése, a follikuláris fiziológiában szerepet játszó kulcsfontosságú biológiai folyamatok és szabályzó pontok feltárására.
- Lipid- és transzporttal kapcsolatos fehérjék kiválasztása célzott, kvantitatív validációra, valamint ezek potenciális szerepének értékelése a reprodukív siker biomarkereként.

#### 3.2. Lipidomika

- A TF lipidösszetételének vizsgálata célzott és nem célzott, LC-MS/MS alapú lipidomikai profilalkotással.
- A petesejt fejlődőképességével és a terhességi kimenetellel összefüggő lipidosztályok és egyedi lipidszármazékok azonosítása.
- A lipidanyagcsere és a lipidjelátviteli útvonalak változásainak vizsgálata, különös tekintettel az oxidatív stresszre és a gyulladásra a follikuláris mikro környezetben.
- A lipidtranszport- és átalakítás működési mechanizmusainak feltárása az ART kezeléseik sikerében.

### **3.3. Metabolomika**

- A TF-ban található húsz fő aminosav célzott, kvantitatív elemzése.
- Az aminosav-profilok összehasonlítása különböző klinikai alcsoportok között, ideértve a kontroll pácienseket, valamint az endometriózisban, inzulinrezisztenciában vagy pajzsmirigybetegekben szenvedő betegeket.
- Az aminosavakhoz kapcsolódó metabolikus útvonalak azonosítása, amelyek a follikuláris fiziológia megváltozásához és a reprodukív kimenetel romlásához köthetők.
- A kiválasztott aminosavak biomarker-potenciáljának értékelése, statisztikai és útvonal-alapú elemzési megközelítések alkalmazásával.

## **4. Anyagok és módszerek**

### **4.1. A tanulmány felépítése és az etikai engedély**

A kutatást 2021. májusa és 2025. márciusa között végeztük a Pécsi Tudományegyetemen. A TF mintavétele a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán történt, míg az analitikai munkát a Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézetében, a Laboratóriumi Medicina Intézetben, valamint a Szentágotthai Kutatóközpont Humán Reprodukciós Nemzeti Laboratóriumában végeztük. Minden, humán résztvevőket érintő eljárás megfelelt az intézményi kutatási bizottság etikai előírásainak, valamint a Helsinki Nyilatkozat rendelkezéseinek. A mintavétel előtt minden páciens írásbeli tájékoztatást kapott, és beleegyezését adta a vizsgálatban való részvételhez.

Az asszisztált reprodukciós kezeléseken részt vevő pácienseket a vizsgálat céljától függően a terhességi kimenetel vagy az alapbetegségek szerint csoportosítottuk. A rögzített klinikai adatok között szerepelt a páciens életkora, testtömeg-indexe (BMI), a leszívott és megtermékenyített petesejtek száma, valamint az alapbetegségek típusa.

### **4.1. Mintagyűjtés és feldolgozás**

A TF mintákat transzvaginális ultrahang-vezérelt petesejt-leszívás során gyűjtöttük. Csak a látható vérszennyeződéstől mentes, tiszta TF mintákat vettük be az elemzésekbe. A mintákat a sejttörmelék eltávolítása érdekében centrifugáltuk, majd  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk a további feldolgozásig.

A perifériás vénás vérmintákat a petesejt-leszívás napján vettük, lehetővé téve a szérum-TF összehasonlításokat bizonyos elemzésekben. A szérum mintákat a standard klinikai laboratóriumi eljárások szerint dolgoztuk fel és azonos tárolási körülmények között helyeztük el.

### **4.2. Multi-omikai analízis**

A TF proteomikai vizsgálatát LC-MS/MS alkalmazásával végeztük. A fehérjéket precipitáltuk, denaturáltuk, redukáltuk, alkileztük, majd enzimatikusan emésztettük az elemzés előtt. A peptid keverékeket fordított fázisú folyadékkromatográfiával választottuk szét, majd nagyfelbontású tömegspektrométerrel elemeztük. A fehérjék mennyiségi összehasonlítására label-free kvantifikációt alkalmaztunk a vizsgálati csoportok között. Azonosított fehérjéket funkcionálisan annotáltuk, és fehérje-fehérje kölcsönhatási hálózatokat építettünk nyilvánosan elérhető adatbázisok felhasználásával. Funkcionális gazdagítási elemzéseket végeztünk a túlreprezentált biológiai folyamatok és útvonalak azonosítására.

A TF lipidomikai profilalkotását nem célzott UHPLC–MS/MS megközelítéssel végeztük a Bligh–Dyer lipidkivonási módszer alkalmazása után. A lipidszármazékokat a pontos tömeg, a visszatartási idő és a fragmentációs mintázatok alapján azonosítottuk referencia adatbázisok segítségével. Multivariáns statisztikai elemzéseket alkalmaztunk az ART-kimenetellel összefüggő lipidosztályok és lipidszármazékok azonosítására.

A célzott metabolomikai vizsgálat a hús fehérjealkotó aminosav kvantitatív meghatározására összpontosított a TF-ban. Az aminosavakat derivatizáltuk, majd UHPLC és fluoreszcencia-detektálás segítségével elemeztük. A statisztikai elemzések a csoportok közötti összehasonlításokat, korrelációs elemzéseket a klinikai paraméterekkel, útvonal-gazdagítási vizsgálatokat és a biomarkerek értékelését foglalták magukban.

#### **4.3. A lipidekhez köthető fehérjék kvantitatív elemzése**

A kiválasztott lipidhez kapcsolódó fehérjéket és lipoprotein-paramétereket, többek között az apolipoprotein A1-et, a HDL-koleszterint, az összkoleszterint, az LDL-koleszterint, a triglicerideket és a lipoprotein(a)-t, validált klinikai kémiai módszerekkel határoztuk meg összehangolt szérum- és TF mintákban. A szérum-TF arányokat kiszámítottuk a vér–follikulus gáton történő szelektív transzport értékelésére.

#### **4.4. Statisztikai analízis és adatfeldolgozás**

A statisztikai elemzéseket az SPSS szoftver segítségével végeztük. A csoportok közötti összehasonlításokat a paraméterek eloszlásától függően paraméteres vagy nem-paraméteres tesztekkel végeztük, míg a molekuláris és klinikai paraméterek közötti összefüggéseket Spearman-korrelációval értékeltük. Többszörös összehasonlítások esetén korrekciót alkalmaztunk, és a statisztikai szignifikancia szintjét  $p < 0,05$ -ben állapítottuk meg.

A proteomikai adatokat dedikált tömegspektrométeres szoftverrel és kurátori fehérjeadatbázisokkal dolgoztuk fel. A funkcionális annotációt, az útvonal-elemzést, valamint a fehérje-fehérje kölcsönhatási hálózatok felépítését a STRING és PANTHER szoftverek segítségével végeztük a kulcsfontosságú funkcionális modulok és a központi fehérjék azonosítása céljából. A lipidomikai adatokat a gyártó specifikus szoftverével elemeztük a csúcsetektálás és normalizálás után, majd statisztikai értékelést végeztünk a lipidosztályokra és a célzott lipidparaméterekre vonatkozóan. Az aminosav-metabolomikai adatokat a

MetaboAnalyst platform segítségével elemeztük, beleértve a statisztikai tesztek, főkomponens-analízist (PCA), gazdagítási és útvonal-elemzéseket, valamint a biomarkerek értékelését.

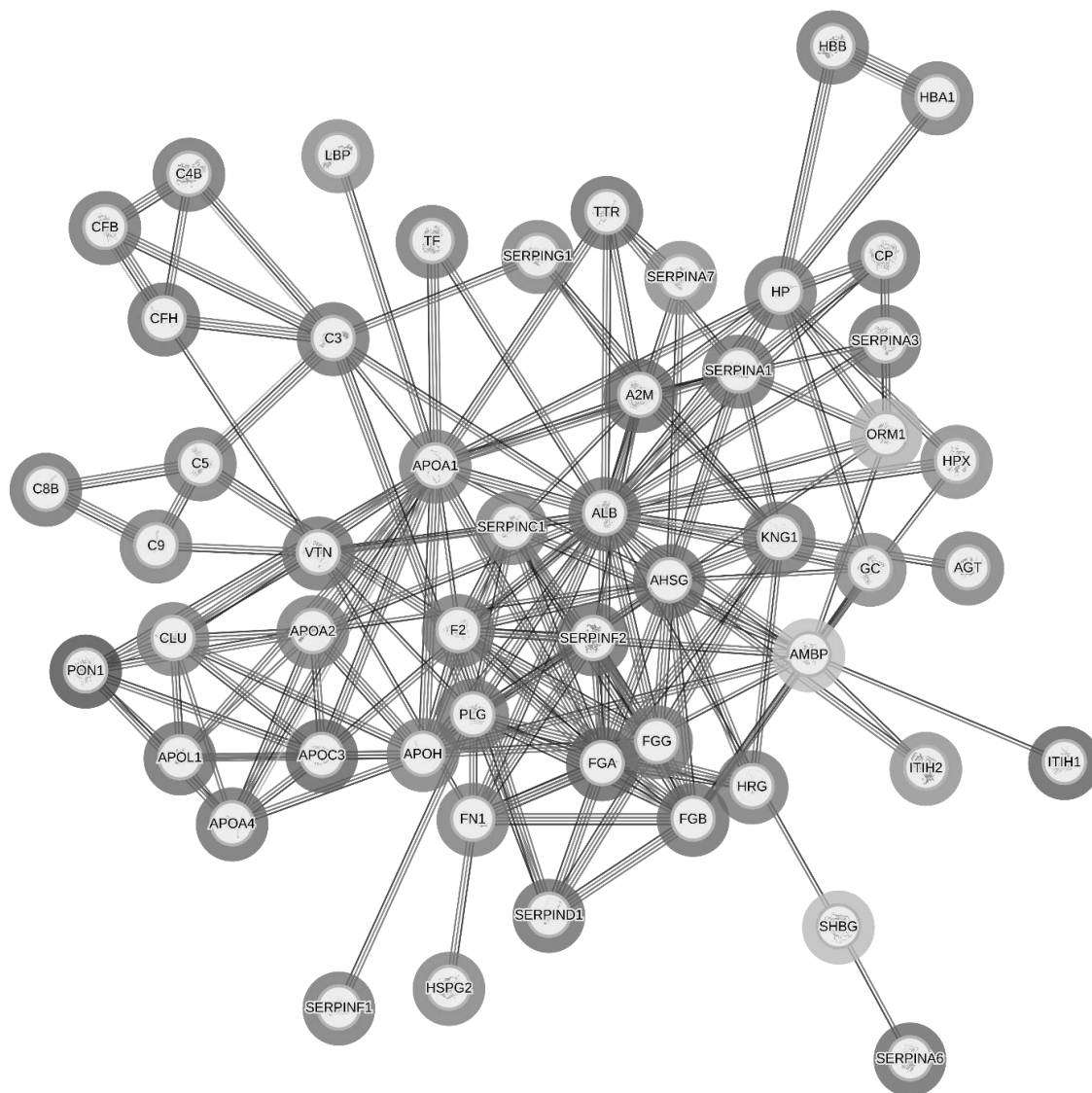
## 5. Eredmények

### 5.1. Proteomikai eredmények

Nagyfelbontású proteomikai vizsgálattal a TF mintákban összesen 131 fehérjét azonosítottunk, amelyeket biológiai folyamatok, funkcionális fehérjecsoportok és kapcsolódó útvonalak szerint osztályoztunk. A funkcionális annotáció kimutatta, hogy a TF proteomját elsősorban a sejtes és metabolikus folyamatokban, valamint biológiai szabályozásban részt vevő fehérjék alkotják, ami intenzív helyi anyagcsere- és szabályozó aktivitásra utal a follikuláris mikrokörnyezetben. A fehérjék funkció szerinti csoportosítása alapján a védelmi és immunfunkcióval kapcsolatos fehérjék alkották a legnagyobb csoportot, amelyet a fehérjekötő aktivitást moduláló és a transzport/karrier fehérjék követtek. Az útvonal-gazdagítási elemzés a vérárvadás és a plazminogén-aktiváció kaszkádját azonosította a legjelentősebb reprezentált útvonalaként. További gazdagított útvonalak közé tartozott a B-sejt aktiváció, angiogenezis, integrin-jelátvitel, D-vitamin-anyagcsere és a szerin–glicin bioszintézis is, ami a follikuláris homeosztázist szabályozó komplex hálózatot tükrözi.

A kvantitatív összehasonlító elemzés azt mutatta, hogy 77 fehérje mennyisége különbözött szignifikánsan a terhes és nem terhes ART-páciensek között, ami arra utal, hogy a follikuláris proteom szorosan összefügg a reprodukív kimenetellel. A funkcionális gazdagítási elemzés kimutatta, hogy a lipidanyagcserehez, koleszterinszállításhoz és gyulladáshoz kapcsolódó folyamatok szabályozáshoz kapcsolódó fehérjék felülreprezentáltak a különböző mennyiségben jelen lévő fehérjék között.

A fehérje-fehérje kölcsönhatási hálózat elemzés az albumint és az apolipoprotein A1-et azonosította központi hub-fehérjéként, amelyek a hálózatban magas kapcsolódottsággal rendelkeznek (1. ábra). A funkcionális gazdagítási elemzés kiemelte a HDL-hez kapcsolódó útvonalakat, a koleszterin-transzportot és a szerin-proteáz gátlást, ami a lipidhez társult fehérjék kulcsszerepét jelzi a reprodukív kimenetelben.



1. ábra: Az azonosított fehérjék fehérje- fehérje kölcsönhatási hálózata. A hálózat a magas megbízhatóságú kölcsönhatásokat tartalmazza (minimum interakciós pontszám: 0,9). A csomópontok az azonosított fehérjéket, a vonalak a közöttük fennálló kölcsönhatásokat jelölik.

## 5.2. A lipidekhez köthető fehérjék kvantitatív elemzése

A proteomikai eredményekre alapozva célzott kvantitatív vizsgálatokat végeztünk a lipidekkel összefüggő proteinek további analizésére. A mérési sorozatban az apolipoprotein A1, a HDL-koleszterin, az összkoleszterin, az LDL-koleszterin, a trigliceridek és a lipoprotein(a) koncentrációját határoztuk meg ugyanazon beteg szérumban és TF mintáiban. Ahogy várható volt, a szérumban mért koleszterinhez kapcsolódó paraméterek koncentrációja jelentősen magasabb volt, mint a TF-ban mért értékek, ami a vér-follikulus gát szelektív átjárhatóságát tükrözi. A

kimenetellel összefüggő különbségek elsősorban a TF-ban mutatkoztak, nem a szérumban. A terhes páciensektől származó TF mintákban az ApoA1 és az összkoleszterin koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a nem terhes páciensek mintáiban, de hasonló irányú tendenciák figyelhetők meg a HDL-C és a lipoprotein(a) esetében is.

A szérum-TF arányok elemzése kimenetel függő mintázatokat tárt fel, ami arra utal, hogy a lipidtranszport a folliculáris térbe szabályozott folyamat és nem pusztán passzív diffúzió. Eredményeink azt mutatják, hogy az effektív HDL-átalakítás és a koleszterin szabályozott felhasználása a folliculáris környezetben összefügg a sikeres ART-kimenetellel. Az HDL-hez kapcsolódó fehérjék megváltozott eloszlása tovább erősíti az ApoA1-vezérelt lipidtranszport központi szerepét a folliculáris homeosztázis fenntartásában és a petesejt-érés optimális körülményeinek biztosításában.

### **5.3. A tüszőfolyadék lipidomikai profilja**

A nem célzott UHPLC-MS/MS alapú lipidomikai vizsgálatok jellegzetes lipidmintázatokat tártak fel, amelyek összefüggésbe hozhatók a terhességi kimenetellel. Számos lipidosztály, így a foszfatidilkolinok, lizofoszfatidilkolinok és szfingomielinek, szignifikánsan alacsonyabb mennyiségben voltak jelen a terhes páciensek TF-ban. Ezzel szemben a nem terhes páciensek mintáiban megnövekedett szintű koleszterin-észterek és ceramidok voltak kimutathatók.

Ezek a lipidszármazékok jól ismert szerepet játszanak a pro-inflammatorikus jelátviteli útvonalakban és az oxidatív stresszre adott válaszokban. A megfigyelt lipidomikai eltérések a pro-inflammatorikus és metabolikusan kedvezőtlen folliculáris környezet felé történő eltolódást jeleznek a sikertelen ART-ciklusokban.

### **5.4. A tüszőfolyadék aminosav profilja**

A TF célzott metabolomikai profilalkotása a 20 fehérjealkotó aminosav kvantitatív elemzésére összpontosított, lehetővé téve a folliculáris mikrokörnyezet metabolikus állapotának feltárását. Az összehasonlító elemzés jelentős különbségeket tárt fel a terhes és nem terhes betegek TF-nak aminosav-összetétele között, ami arra utal, hogy az aminosav-ellátottság és az anyagcsere szoros összefüggésben áll a reprodukív kimenetellel.

A terhes páciensektől származó TF mintákban szignifikánsan magasabb volt az aszparagin, a hisztidin, a glicin és a treonin koncentrációja. Ezek az aminosavak kulcsszerepet játszanak

olyan biológiai folyamatokban, mint a fehérjeszintézis, nitrogén-anyagcsere, antioxidáns védelem és a sejtes redox-egyensúly, amelyek mind elengedhetetlenek a petesejt éréséhez és a korai embrionális fejlődéshez. A glicin és a hisztidin az oxidatív stressz elleni védelemhez is kapcsolódik, ami kedvezőbb redox-környezetet jelez a tüszőben, elősegítve a sikeres terhességi kimenetelt.

A korrelációs elemzések összefüggéseket mutattak bizonyos aminosavak és klinikai paraméterek között. A tirozin és leucin koncentrációja szignifikánsan korrelált a testtömeg-indexszel, ami a szisztémás metabolikus állapot hatását tükrözi a folliculáris aminosav-összetételre. Emellett több aminosav összefüggést mutatott a leszívott és megtermékenyített petesejtek számával, alátámasztva funkcionális jelentőségüket a petesejt érettségéhez.

A betegség-specifikus alcsoport-elemzések jellemző aminosav-eltéréseket azonosítottak endometriózisban és inzulinrezisztenciában szenvedő páciensek esetében. A TF aminosav-profilokra alapozott főkomponens-analízis (PCA) a csoportok részleges elkülönülését mutatta. Endometriózis esetén az energia-anyagcseréhez és redox-szabályozáshoz kapcsolódó aminosavak koncentrációja megváltozott, ami összhangban áll a betegségben leírt fokozott oxidatív stresszel és gyulladásos aktivitással. Hasonlóképpen, az inzulinrezisztenciában szenvedő páciensek jellegzetes aminosavmintázatot mutattak, amely a metabolikus homeosztázis zavarával függ össze. Ezek az eredmények azt jelzik, hogy különböző kóros állapotok sajátos metabolikus ujjlenyomatokat hagynak a TF-ban. A jelentősen megváltozott aminosavak útvonal-gazdagítási elemzése kiemelte azokat a metabolikus útvonalakat, amelyek az aminosav-bioszintézishez, a nitrogén-anyagcseréhez és az antioxidáns védelemhez kapcsolódnak.

Ezek az eredmények összességében azt mutatják, hogy a célzott aminosav-profilalkotás fontos információkat szolgáltat a folliculáris metabolikus állapotról és hozzájárul a petesejt minőségét és az ART-sikerességet meghatározó metabolikus tényezők jobb megértéséhez.

## 6. Következtetések

A jelen munka rávilágít arra, hogy a folliculáris folyadék egy szigorúan szabályozott, biológiailag aktív mikro környezet, amely döntő szerepet játszik a petesejt érettségének és az asszisztált reprodukciós kezelések kimenetelének meghatározásában. A proteomikai, lipidomikai és metabolomikai adatok integrált elemzése azt mutatja, hogy a reproductív siker nem izolált molekuláris változásoktól, hanem a folliculáris térben működő összekapcsolt metabolikus és jelátviteli hálózatok koordinált szabályozásától függ.

Eredményeink alapján a lipidtranszport és a koleszterin-homeosztázis központi szabályozó mechanizmusnak bizonyult a folliculáris fiziológiában. Az HDL-hez kapcsolódó fehérjék, lipidfajták és az aminosav-összetétel változásai együttesen tükrözik az oxidatív stresszt, gyulladáshoz kapcsolódó aktivitást és metabolikus egyensúlyzavart, amelyek hátrányosan befolyásolják a petesejt érését és a megtermékenyítés képességét. Ezzel szemben a sikeres terhességek kiegyensúlyozottabb folliculáris környezettel társulnak, amelyet hatékony lipid-átalakítás, megőrzött antioxidáns kapacitás és optimalizált anyagcsere-támogatás jellemez.

A betegség-specifikus elemzések azt is igazolják, hogy a szisztémás metabolikus és gyulladáshoz kapcsolódó állapotok, mint például az inzulinrezisztencia és az endometriózis, jelentősen átalakítják a folliculáris mikro környezetet. Ezek a változások jellegzetes aminosav- és lipidmintázatokban nyilvánulnak meg, amelyek összefüggésbe hozhatók mitokondriális diszfunkcióval, oxidatív stresszel és zavart energia-anyagcserével, magyarázatot adva az érintett betegpopulációk csökkent termékenységre.

Összességében az eredmények azt hangsúlyozzák, hogy a folliculáris folyadék összetétele tükrözi egyrészt a szervezet egészének metabolikus állapotát, másrészt a petefészek helyi szabályozását is. Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy a folliculáris folyadék teljes körű, multi-omikai vizsgálata rendkívül hatékony eszköz a reprodukciós fiziológia megértésére, valamint az ART-siker molekuláris meghatározóinak feltárására.

## 7. Összefoglalás és újszerű tudományos eredmények

A jelen doktori munka átfogó multi-omikai jellemzést nyújt a follikuláris folyadékról és feltárja annak kapcsolatát a reprodukív kimenettel, valamint a betegségekkel összefüggő metabolikus eltérésekkel. A proteomikai, lipidomikai és célzott aminosav-analízisek együttes értékelésével a vizsgálat molekuláris ujjlenyomatokat azonosítottunk, amelyek a terhességi sikerhez kapcsolódnak, továbbá feltártuk az egyes kóros állapotok által előidézett, a follikuláris homeosztázist érintő zavarokat.

A disszertáció újszerű tudományos eredményei a következők:

1. Bizonyításra került, hogy a follikuláris folyadék nem csupán a szérum passzív ultrafiltrátuma, hanem egy dinamikusan szabályozott biológiai mátrix, amelyre jellegzetes proteomikai, lipidomikai és metabolomikai profilok jellemzőek.
2. Azonosításra került az albumin és az apolipoprotein A1 központi hub-fehérjeként a follikuláris folyadék fehérje-fehérje kölcsönhatási hálózatában, kiemelve integratív szerepüket a lipidtranszportban, az antioxidáns védelemben és az immunregulációban.
3. Bizonyítékot nyert, hogy a sikeres terhesség hatékony HDL-vezérelt lipid-átalakítással és szabályozott koleszterin-felhasználással társul a follikuláris térben.
4. A lipidomikai és metabolomikai adatok integrációja feltárta az oxidatív stresszhez és gyulladáshoz kapcsolódó molekuláris ujjlenyomatokat, amelyek a sikertelen ART-kimenetekre jellemzőek.
5. Betegség-specifikus metabolikus profilokat azonosítottunk inzulinrezisztenciában és endometriózisban, amelyek károsodott energia-anyagcserét és csökkent antioxidáns kapacitást tükröznek a follikuláris folyadéokban.

Összességében ezek az eredmények előreviszik a follikuláris biológia megértését, és bizonyítják, hogy a follikuláris folyadék multi-omikai elemzése klinikailag releváns információkat szolgáltat a petesejt minőségét meghatározó molekuláris tényezőkről. Az azonosított biomarkerek és útvonalak ígéretes lehetőséget nyújtanak a jövőbeni diagnosztikai és terápiás stratégiákhoz, amelyek célja az asszisztált reprodukciós kezelések sikerességének javítása.

## 8. Saját publikációk, előadások listája

### 8.1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

- **Kurdi, C.**; Schmidt, J.; Horváth-Szalai, Z.; Mauchart, P.; Gödöny, K.; Várnagy, Á.; Kovács, G. L.; Kőszegi, T.; Follicular Fluid Proteomic Analysis of Women Undergoing Assisted Reproduction Suggests That Apolipoprotein A1 Is a Potential Fertility Marker, INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES 25 : 1 Paper: 486 , 15 p. (2024); **IF:4,9, Q1**
- **Kurdi, C.**; Lelovics, V.; Hesszenberger, D.; Lajtai, A.; Lakatos, Á.; Herczeg, R.; Gödöny, K.; Mauchart, P.; Várnagy, Á.; Kovács, G.L.; Kőszegi, T.; Amino Acid Profiling of Follicular Fluid in Assisted Reproduction Reveals Important Roles of Several Amino Acids in Patients with Insulin Resistance; INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES 24 : 15 Paper: 12458 , 15 p. (2023); **IF:4,9, Q1**
- **Kurdi, C.**; Hesszenberger, D.; Csabai, D.; Lajtai, A.; Lakatos, Á.; Jakabfi-Csepregi, R.; Gödöny, K.; Mauchart, P.; Várnagy, Á.; Kovács, G. L.; Kőszegi, T.; Follicular Fluid Amino Acid Alterations in Endometriosis: Evidence for Oxidative Stress and Metabolic Dysregulation, BIOMEDICINES : 13 Paper: 2634, 15 p (2025); **IF: 3,9, Q1**

**Az értekezés alapját képező közlemények összesített impakt faktora: 13,7**

### 8.2. Az értekezéshez szorosan nem kapcsolódó egyéb közlemények

- Suthar, Sharad K.; Jernei, T.; **Kurdi, C.**; Horváth, Á.I. ; Rauscher, A.Á.; Gyimesi, M.; Málnási-Csizmadia, A.; Fragment-based structure-activity relationship analysis of CK-571 reveals non-interacting groups drive smooth muscle myosin selectivity.; EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY 305 Paper: 118476 (2025); **IF: 5.9, Q1**
- Suthar, Sharad K.; Szimler, T.; Péntes, M.; Chandrabhas, S.; Rauscher, A. Á.; Lőrincz, I.; Hegyi, G.; **Kurdi, C.**; Glatz, G.; Szőnyegi, Z. et al.; Comprehensive SAR analysis of actomyolytics, drug candidates targeting the actomyosin complex; EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY 299 Paper: 117999 (2025); **IF: 5.9, Q1**
- Gergics, M.; Pham-Dobor, G.; **Kurdi, C.**; Montskó, G.; Mihályi, K.; Bánfai, G.; Kanizsai, P.; Kőszegi, T.; Mezősi, E.; Bajnok, L.; Apelin-13 as a Potential Biomarker in

Critical Illness; JOURNAL OF CLINICAL MEDICINE 12: 14 Paper: 4801, 11 p. (2023), **IF:2.9 Q1**

- Kőszegi, T.; Horváth-Szalai, Z.; Ragán, D.; Kósa, B.; Szirmay, B.; **Kurdi, C.**; Kovács, G.L. ; Mühl, D.; Measurement of Urinary Gc-Globulin by a Fluorescence ELISA Technique: Method Validation and Clinical Evaluation in Septic Patients—A Pilot Study; MOLECULES 28 : 19 Paper: 6864 , 15 p. (2023), **IF:4.2 ,Q1**
- Gyimesi, M.; Horváth, Á.I.; Túrós, D.; Suthar, Sharad K.; Péntes, M.; **Kurdi, C.**; Canon, L.; Kikuti, C.; Ruppel, K. M.; Trivedi, D.V. et al., Single Residue Variation in Skeletal Muscle Myosin Enables Direct and Selective Drug Targeting for Spasticity and Muscle Stiffness, CELL 183 : 2 pp. 335-346.e13., 12 p. (2020), **IF: 41.584, Q1**

**Az értekezés alapját képező közlemények összesített impakt faktora: 13,7**

**A publikációk összesített impakt faktora: 74,284**

**Független citáció: 36**

**Hirsch index: 3**

### **8.3. Az értekezéshez szorosan nem kapcsolódó könyvfejezet**

- **Csilla K.**; Tamás K.; CIRCULATING TUMOR CELLS IN MEDICAL RESEARCH, In: Tamás Kőszegi; Antonella Chesca; LABORATORY TECHNIQUES WITH APPLICABILITY IN MEDICAL PRACTICE; Saarbrücken: Lambert Academic Publishing (LAP), pp 135-144 (2015)

### **8.4. Az értekezéshez szorosan nem kapcsolódó egyéb konferencia előadások, poszterek**

- Temesfői V.; **Kurdi C.**; Kőszegi T.; Fibrin alapú három dimenziós szövettenyésztési eljárás fejlesztése; In: IDK 2015 - IV. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2015 : Abstract
- **Csilla K.**; Viktória T.; Tamás K.; Possible method for tumor cell isolation from whole blood; 4th Interdisciplinary Doctoral Conference 2015
- **Csilla K.**; Viktória T.; Tamás K.; Development of 3D tissue culturing method for investigation of circulating tumor cells; In: Semmelweis Egyetem PhD : PhD Scientific Days 2015

- Temesfői V.; **Kurdi C.**; Szálig Á.Gy.; Laki A. J.; Kőszegi T.; Bemeneti minta optimalizálása keringő tumorsejtek kinyeréséhez; mikrofluidikai eszköz fejlesztése; Doktoranduszok a Klinikai Kutatásokban; Pécs, 28<sup>th</sup> October, 2017
- R. Csepregi; V. Temesfői; **C. Kurdi**; Á.G. Szélig; A.J. Laki; T. Kőszegi; DETECTION AND IDENTIFICATION OF CULTURED TUMOR CELLS IN MICROFLUIDIC DEVICE; 3rd ACTC Advances in Circulating Tumour Cells Liquid Biopsy in Clinical Practice, (ACTC 2017); October 4th - 7th, 2017, Rhodes, Greece
- **Kurdi C.**; Temesfői V.; Szélig Á.Gy.; Kőszegi T.; Laki A. J.; Mikrofluidikai eszköz tesztelése keringő tumorsejtek izolálása céljából; Doktoranduszok a Klinikai Kutatásokban; 28<sup>th</sup> October 2017
- Suthar Sharad K.; Gyimesi M.; **Kurdi C.**; Malnasi-Csizmadia A.; SAR Analysis of Linker Derivatives of the Smooth Muscle Myosin Specific CK-571 Compound; BIOPHYSICAL JOURNAL (0006-3495 1542-0086): 118 3 pp 495A-495A (2020)

## 9. Köszönetnyilvánítás

Szeretném őszinte hálámat kifejezni mindazoknak, akik szakmai útmutatásukkal, támogatásukkal és biztatásukkal hozzájárultak jelen doktori disszertáció elkészítéséhez.

Elsősorban szeretném kifejezni köszönetemet **Prof. Dr. Kőszegi Tamásnak**, témavezetőmnek, a hosszú távú mentorálásért, tudományos iránymutatásért és a doktori tanulmányaim során nyújtott kitartó támogatásért. Szakértelme, elkötelezettsége és bizalma elengedhetetlen volt a munka sikeres befejezéséhez. Hasonlóan hálás vagyok **Prof. Dr. Kovács L. Gábornak**, másik témavezetőmnek, hasznos tudományos tanácsaiért, konstruktív visszajelzéseikért és bátorításáért. A Humán Reprodukciós Nemzeti Laboratórium vezetőjeként, lehetőséget biztosított számomra a kutatási programban való részvételre és munkámat akadémiai szabadsággal és bizalommal támogatta.

Köszönöm **Dr. Gombos Katalinnak**, a Molekuláris Medicina Kutatócsoport vezetőjének, hogy folyamatos biztatásával és pozitív visszajelzéseivel nagyban hozzájárult motivációm fenntartásához a doktori éveim során.

Hálás vagyok a Laboratóriumi Medicina Intézet munkatársainak szakmai támogatásukért. Köszönöm **Vassné Dr. Lakatos Ágnesnek** és **Dr. Lajtai Anikónak** a laboratóriumi infrastruktúra biztosítását az aminosav-analízisekhez, **Dr. Csabai Dávidnak**, **Hessenberger Dávidnak** és **Lelovics Vanesszának** a technikai segítséget, valamint **Dr. Horváth-Szalai**

**Zoltánnak** és **Dobos Ágnesnek** a proteomikai és lipidomikai mérésekben nyújtott közreműködést. Külön köszönöm **Dr. Jakabfi-Csepregi Ritának** az együttműködést, tanácsait és barátságát a hosszú doktori éveim során.

Különösen hálás vagyok **Schmidt Jánosnak** a HPLC–MS elemzésekhez és a multi-omikai vizsgálatokhoz kapcsolódó módszerfejlesztéshez nyújtott szakértő támogatásáért.

Köszönöm továbbá **Dr. Várnagy Ákosnak**, **Dr. Mauchart Péternek** és **Gödöny Krisztinának** az együttműködést a páciensek mintáinak gyűjtésében, valamint az adatok rendszerezésében és összesítésében

Végül, de nem utolsósorban mély hálával tartozom **Családomnak** folyamatos támogatásukért. Szeretettel emlékezem elhunyt édesapámra és nagyszüleimre, akikbe vetett hitük állandó motivációt jelentett számomra. Hálás vagyok édesanyámnak és nővéremnek biztatásukért, valamint férjemnek a kitartó támogatásért és értékes meglátásaiért. Köszönettel tartozom anyósomnak és apósomnak is, akik segítségével hozzájárultak a disszertáció sikeres befejezéséhez.

Munkám az alábbi pénzügyi támogatás segítségével készülhetett el:

RRF-2.3.1-21-2022-00012, azonosítószámú, Humán Reprodukciós Nemzeti Laboratórium megnevezésű projekt a Széchenyi Terv Plusz program keretében, az Európai Unió Helyreállítási és Ellenállóképességi Eszközének támogatásával valósul meg.