

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Praeclampsia kockázatbecslése a terhesség első trimeszterében

Dr. Orosz László

Témavezető: Dr. Török Olga



DEBRECENI EGYETEM
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2020

Praeclampsia kockázatbecslése a terhesség első trimeszterében

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

Írta: Dr. Orosz László okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai orvostudományok doktori iskolája
(klinikai vizsgálatok programja) keretében

Témavezető: Dr. Török Olga, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, az MTA Doktora
tagok: Dr. Várbíró Szabolcs, PhD
Dr. Tóth Judit, PhD

A doktori szigorlat időpontja: 2020. október 30., 11:30

Az értekezés bírálói:

Dr. Nagy Sándor, PhD
Dr. Hernádi László, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, az MTA Doktora
opponensek: Dr. Nagy Sándor, PhD
Dr. Hernádi László, PhD
tagok: Dr. Várbíró Szabolcs, PhD
Dr. Tóth Judit, PhD

Az értekezés védésének (online formában) időpontja: 2020. október 30., 13:00

A nyilvánosságot online módon biztosítjuk. Amennyiben a vitán részt kíván venni, úgy jelezze a laszlo.orosz.dr@gmail.com e-mail címre a vitát megelőző munkanap (2020. október 29.) 12 óráig. A határidő lejártát követően technikai okok miatt már nincs lehetőség a védéshez kapcsolódni.

1. Bevezetés

A fejlett egészségüggyel rendelkező országokban a praeclampsia felelős a terhességgel kapcsolatos anyai halálozás 14%-áért, magzati oldalról tekintve pedig az elhalások 10%-áért, míg a koraszülések 12-16%-ának etiológiai faktora. A praeclampsia 2-3%-os előfordulási gyakorisága miatt is jelentős terhet ró az egészségügyi betegellátó rendszerre.

Kórosi szempontból multifaktoriális, legszélesebb körben elfogadott meghatározó etiológiai tényezője a tökéletlen lepényi beágyazódás. A kóros implantáció eredményeként bekövetkező ischaemiás folyamatok és károsodások indukálta gyulladásozó faktorok a vérlemezkék, illetve az ereket bélelő hám biokémiai kaszkádfolyamatait indítják el. Ezen folyamatok magas vérnyomás, vizeletfehérje ürítés, ezáltal következményes ödéma kialakulásához vezetnek a későbbiekben. Ez a szisztémás kórkép kizárólag a terhességgel összefüggésben, annak második felében alakul ki. A kifejlődött kórkép irreverzibilis, terápiás szempontból egyedül vérnyomáscsökkentők jönnek szóba, melyek a kialakult betegségekre már nem hatnak. Súlyos esetekben, amennyiben a további várakozást anyai vagy magzati szempontból kockázatosnak ítéljük, az egyedüli megoldás a méhlepény eltávolítása, azaz a terhesség befejezése.

A betegség manifesztációjának ideje alapján az esetek két csoportba sorolhatók.

1. Korai praeclampsia, amikor a terhesség befejezésére a 34. hét előtt kényszerülünk
2. Késői praeclampsia, amikor a terhesség befejezésének szükségessége a 34. hét

Irodalmi adatok alapján a korai praeclampsia prevalenciája 0,5% míg a késői praeclampsia előfordulása 2%.

1.1 Praeclampsia kutatásunk előzménye

Az elmúlt 20 évben több tanulmány eredménye utalt arra, hogy számos, a terhességet kedvezőtlenül befolyásoló kórállapot előre jelezhető, akár már a terhesség 11-13. hetében. A későbbi terhességi korban manifesztálódó, az anyai-magzati morbiditást és mortalitást növelő kórállapotok emelkedett kockázatának korai ismerete a várandósgondozás személyre szabott tervezését teszi lehetővé.

Az új gondolkodásmód elterjesztésében Kypros Nicolaides professzor meghatározó szerepet játszott, és ezt 2011-ben úttörő publikációjában „Turning the Pyramid of Prenatal Care” címmel közölte. Ennek alappillére az anamnézisen, individualizált anyai biofizikális jellemzőkön, kiterjesztett és részletgazdag magzati és anyai ultrahangvizsgálaton, valamint az anyai szérum biomarkerek vizsgálatán alapuló individuális kockázatbecslés. A standardizált protokoll alapján végzett integrált tesztsorozat segítségével változó szenzitivitással, de előre jelezhető a terhességi szövődmények nagy többsége.

Professzor Kypros Nicolaidesnél 2010-2013 között négy alkalommal történt pár hetes ösztöndíjas látogatás során, valamint 2012-2014 között megvalósult két éves ösztöndíj program keretében sikerült bekapcsolódnom az ott folyó kutatói munkába és a mindennapi gyakorlatban is elsajátítani az FMF irányelveket. A két éves tanulmányút végén Magyarországon elsőként megszereztem a Diploma in Fetal Medicine képesítést, melyet a Debreceni Egyetem Klinikai Központ várandós ellátásában csakúgy, mint a hazai szakorvosképzés és továbbképzésben hasznosíthattam a múltban, és ennek folytatását tervezem a jövőben is.

1.2 Irodalmi áttekintés

1.2.1. A praeclampsia első trimeszteri szűrésének lehetőségei

A tradicionális szűrőmódszerek, melyek csupán az anyai előzményi adatokat használták fel a rizikóbecslésre, a praeclampsiaával szövődött eseteknek csupán 35%-át jelezték 10%-os fals pozitív ráta mellett (NICE irányelvek).

A nem megfelelő lepényi beágyazódás és az ezzel összefüggésben meginduló biokémiai kaszkád folyamatok vizsgálata során számos esetben kimutatták egyes lepényi eredetű biokémiai markerek megváltozott anyai szérumszintjét a betegség tüneteinek kifejlődését követően vagy azt közvetlenül megelőzően. Az egészséges terhesek mintáival összehasonlítva megfigyelték azt is, hogy már az első trimeszter során eltérő koncentrációban vannak jelen bizonyos lepény által termelt biomarkerek a későbbiekben praeclampsiaiban megbetegedettek vérmintáiban.

A PAPP-A, PlGF, adiponectin, endoglin, pentraxin-3, P-selectin, aktivin-A, inhibin-A és a vizeletből mért orosomuroid a leggyakrabban vizsgált első trimeszteri praeclampsia biomarkerek. Az angiogenetikus faktorok (vascular endothelial growth factor (VEGF) és PlGF) megkötéséért és neutralisatiojáért felelős solubilis FMS-like tyrosine kinase (sFLT-1) és a transforming growth faktor Béta1 és Béta3 koreceptoraként funkcionáló solubilis endoglin, mint a praeclampsia angiogenetikus etiológiájában kulcsszerepet játszó két peptid, valamint a lepényi implantációban és az ér remodellingben fő szerepet játszó placentál protein 13 (PP13) vizsgálata rávilágít a placentáris ér újdonszövődésnek a betegség kialakulásában játszott egyik lehetséges kiemelt szerepére.

Az anyai előzményi adatok és a terhesség 11-13. hetében mért BMI, artéria uterina pulzatilitási index (UtA-PI), artériás

középvérnyomás (MAP), anyai szérumból meghatározott PAPP-A és PIGF eredmények együttes figyelembe vételével az elmúlt években megjelent néhány prospektív tanulmány szerint a 34. hét előtt manifesztálódó praeclampsziát 90%-ban, a 34-37. héten manifesztálódó praeclampsziát 80%-ban, a 37. hét után manifesztáló praeclampsziát pedig 60%-ban lehetséges előre jelezni 5-10%-os fals pozitív ráta mellett. Ezen tanulmányok többségét angolszász populáción viszonylag nagy esetszámon végezték, közel megegyező eredményekkel. Ugyanakkor dél- vagy közép-európai populációkon végzett kisebb esetszámú tanulmányok már nem tudták reprodukálni az Egyesült Királyságban publikált eredményeket.

A késői praeclampsia csoportban a szűrési hatékonyság 31-45% közé tehető, tekintettel arra, hogy ezen kórképben nem a lepényi faktorok játsszák a főszerepet, jóval inkább az anyai kardiovaszkuláris jellemzők.

Tekintettel arra, hogy az első trimeszteri praeclampsia rizikóbecslésében egyik alapvető elem az anyai háttér kockázat (a priori risk), amely gyakorlatilag az anyai előzményi adatok és a jelen terhességben mérhető dinamikus változók (artériás közepvérnyomás, testsúly, testmagasság) alapján számolt matematikai arányszám, így érthető az igény olyan tanulmányok készítésére, ahol a vizsgált terhespopuláció összetétele eltér a publikációk zömét alkotó angolszász és észak-amerikai populációktól. A kelet-európai országokban ugyan az elhízás prevalenciája alacsonyabb, mint az Egyesült Királyságban, azonban a kardiovaszkuláris megbetegedések előfordulásának gyakorisága magasabb, mint Angliában.

A különböző vizsgálatok közös konklúziójaként elmondható, hogy jóllehet, számos biokémiai teszt és első trimeszteri ultrahang paraméter kapcsolatba hozható mind az első, mind a második trimeszterben a későbbiekben praeclampsia kialakulásával, ez idáig nem sikerült egy a mindennapi gyakorlatban alkalmazható, minden

populáció szűrésére alkalmas költséghatékony szűrőmodszert bevezetni, vélhetően azért, mert eddig nem sikerült a különböző paramétereket az adott populációra adaptálni. A populációspecifikus jellemzők bevezetésével a cél a tesztek fals pozitív rátájának csökkentése, valamint szenzitivitásuk emelése.

A szűrés további népegészségügyi előnyeire sorolható, hogy irodalmi adatok alapján azon terhesek körében, akiknél korai vagy késői praeclampsia fejlődött ki, magasabb az időskori kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás, így a praeclampsia késői szövődményei közel 20-30 évvel később is jelentkezhetnek a praeclampsiaival sújtott nők körében.

1.2.2. A praeclampsia szűrésére alkalmas további új biomarkerek

A praeclampsia manifesztációját megelőzően számos molekuláris változás már előre mutathatja a betegség kialakulásának kezdetét. Ezen változások kutatásának egyik ígéretes útvonala a proteomika. Eddigi kutatások szerint számos fehérje expressziója változik meg azon terhesek első trimeszteri vérmintáiban, akiknél a későbbiekben korai vagy késői praeclampsia fejlődik ki. A megváltozott fehérjemintázat megfigyelhető a renin-angiotensin rendszerben, az immun rendszerben, a komplement-, illetve a vérárvadási kaszkádban is. Genetikai tényezőket keresve megfigyelték, hogy bizonyos placentáris gének, mint a ZNF554, BCL6 és az ARNT2 metilációs statusának megváltozása is jellemző.

Izraeli első trimeszteri szérumminták két dimenzionális differenciális gélelektroforézis (2D-DIGE) segítségével történő proteomikai vizsgálata 19 fehérje mennyiségi eltérését találta korai praeclampsiaival és SGA magzattal szövődött terhesektől származó szérummintákat összevetve egészséges kontrollokkal. Ez a 19 fehérje az immunválaszban, a komplement-, és a koagulációs kaszkád

működésében, a lipid transzportban, az angiogenezisben, a vérnyomás szabályozásában és az iontranszportban játszik szerepet.

Ugyanezen vizsgálok olyan esetekben, amelyekben a 37. hét után alakult ki a praeclampsia normális születési súlyú magzat mellett, 14 fehérje eltérő mennyiségét mérték a kontrollcsoporttal szemben.

A 14 fehérje vagy megegyezett a korábban észlelt 19 fehérje valamelyikével, vagy pedig hasonló biológiai útvonal regulációjáért volt felelős. Ezek az eredmények arra utaltak, hogy mind a korai, mind a késői praeclampsia etiológiai faktorai már az első trimeszterben jelen lehetnek.

2. Célkitűzés

2.1. Fetal Medicine Foundation irányelvek adaptációja a magyarországi praeclampsia szűrésében

A Fetal Medicine Foundation irányelvek szerinti első trimeszteri praeclampsia-szűrés hatékonyságát kívántuk vizsgálni nem szelektált terhespopulációban Kelet-Magyarországon. További célkitűzésünk volt a praeclampsia kockázatbecslésre javasolt FMF szoftverek által az algoritmusban kalkulált paraméterek szerepének értékelése.

2.2. Új biomarkerek kutatása proteomikai módszerrel

Olyan fehérjék kimutatására törekszünk, mely a későbbiekben a kromoszóma-rendellenességek szűrésére használt szűrőmódszerek hatékonyságát megközelítő, akár kizárólag proteomikai alapokon nyugvó első trimeszteri szűrőmódszer kifejlesztését tehetné elérhetővé. Ennek a kutatásnak első lépcsőjeként egy korábbi izraeli vizsgálat során talált, praeclampsziásokban az első trimeszterben a kontrollokkal

összehasonlítva eltérő módon expresszalódó immunfehérjék validációs vizsgálatát kívántuk elvégezni magyarországi mintákon.

3. Anyag és módszer

3.1. Az első trimeszteri prospektív mintagyűjtésre irányuló tanulmány felépítése

A Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, valamint a nyíregyházi Jósa András Oktató Kórház Szülészeti és Nőgyógyászati Osztály közreműködésével 2010-2013. között a terhesség első trimeszterében (11-13.^{+6 nap} hét) rutin magzati ultrahang szűrővizsgálaton megjelent, nem szelektált terhesek körében, érvényes TUKEB (Tudományos és Kutatás-éti Bizottság) engedéllyel (DEOEC RKEB/IKEB 3092-2010) indítottunk prospektív minta- és adatgyűjtést. A várandósok megfelelő tájékozott beleegyezését követően a pontos gestációs kort a magzati fej-tető-far távolságból (crown- rump length – CRL) határoztuk meg, és a későbbiekben ezt a korrigált terhességi kort használtuk.

Az anyai előzményi adatokat az FMF által javasolt algoritmusban szereplő kérdések alapján vettük fel, majd ugyancsak az FMF irányelveinek megfelelően történt a vérnyomás, testmagasság és testsúly mérése. Az ultrahangvizsgálat a nemzetközi standard mérési protokolloknak megfelelően, akkreditált és évente sikeresen auditált vizsgálok által történt.

A részletes magzati anatómia vizsgálaton túl az FMF szabályok szerint megmértük a következő paramétereket: CRL, tarkóredő (nuchal translucency-NT), biparietális átmérő (BPD), magzati szívfrekvencia (fetal heart rate - FHR) ductus venosus pulzatilitási index (DV-PI), mindkét oldali anyai arteria uterina pulzatitási index (UtA-PI).

Vizsgáltuk a tricuspidalis regurgitáció jelenlétét, illetve a magzati orrcsont csontosodását.

Az ultrahangvizsgálatot követően minden várandóstól vér-, és vizeletmintákat gyűjtöttünk (terhesenként 22 minta: 8 szérum, 8 plazma, 2 fehérvérsejt, 3 vizelet és 1 vizelet üledék), és későbbi kutatási célból -80C° -on tároltuk.

3.1.1.A prospektív tanulmányba bevont esetek utánkövetése – terhességek kimenetele

A terhességek kimeneteléről a debreceni Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika MedSol adatbázisában, a nyíregyházi MedWorks adatbázisában, valamint egyes esetekben a teljes kórlapi dokumentáció áttanulmányozásával, szükség esetén telefonos interjú révén vagy postai úton nyertünk információt. Ezt követően az adatokat a beavólogatáskor nyert információkat már tartalmazó Excel táblázatban összegeztük. A praeclampiát a 2014-es ISSHP (International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy) irányelveinek megfelelően definiáltuk. Valamennyi praeclampiával szövődött eset teljes kórlapi dokumentációját két orvos egymástól függetlenül áttanulmányozta.

3.1.2. Betegbeavólogatás a tanulmány 2.1 részéhez

A célkitűzés 2.1 részében megfogalmazottak vizsgálatára a praeclampiával végződött terhességekhez azonos számú, komplikációmentes terhességgel végződött, az életkor, a paritás, illetve a terhességi kor a vérminta gyűjtése alapján kiválasztott kontroll esetet illesztettünk. Az első trimeszterben rögzített adatokat és a lefagyasztott szérum mintákat használtuk retrospektív vizsgálathoz.

A praeclampsia rizikóbecslését Astraia programmal végeztük, amely az első trimeszteri biokémiai markerek közül a szérumbéta human choriogonadotropint (B-hCG) a placenta associated plasma protein-A-t (PAPP-A) és a placental growth factort (PIGF) használja, melyek szintjeit a fagyasztott mintákból BRAHMS Kryptor műszerrel (ThermoFisher) határoztuk meg. A biokémiai mérések reprodukálhatóságának és megbízhatóságának az FMF kritériumok szerint a vizsgálatot végző laboratórium megfelelt.

A mért szérumkoncentrációkat az összehasonlíthatóság érdekében az Astraia szoftver átkonvertálja az elvárható középérték többszörösére (MoM – multiples of the expected normal medián). A konverzió során a biokémiai eredmények korrekciója az anyai BMI, etnikai hovatartozás és a terhességi kor figyelembe vételével történik. Ennek megfelelően 1 MoM az a szérumbéta koncentráció, ami az adott terhességi korban az adott BMI és etnikum mellett elvárt mediánérték.

A praeclampsziával szövődött terhességek első trimeszteri praeclampsia rizikójának eredményeit hasonlítottuk össze a kontrollcsoport praeclampsia szűrési eredményeivel.

3.1.3. A praeclampsia első trimeszteri rizikóját kalkuláló szoftverek

A rizikóbecslésére két, kereskedelemben is elérhető szoftvert használtunk Astraia 2.3.2 (A1, 2010-ben kiadva) és Astraia 2.8.1 (A2, 2016-ban kiadva, Astraia Software GmbH, Occamstr. 20, 80802, Munich, Germany).

Az anyai „a priori risk” három fő alapeleme az A1 szoftver esetén:

1. Az anyai demográfiai adatok és biometriai paraméterek: rassz, BMI, paritás, dohányzás, fogamzás módja, családi praeclampsia előfordulása

2. Az anyai alapbetegségek: krónikus hipertónia
3. Az előző szülések során fellépő praeclampsia rizikóbecslést befolyásoló faktorok: előzményi praeclampsia előfordulása

Az A1 program kétféle kockázatot számolt:

1. A páciens rizikóját korai praeclampsziára ($X < 34.$ hét)
2. A páciens rizikóját késői praeclampsziára ($X \geq 34.$ hét)

Az A2 szoftver az anyai alap kockázat meghatározásához az A1 szoftver által használt demográfiai adatokon túlmenően négy további információt is felhasznált: anyai diabetes mellitus (DM), szisztémás lupus erythematosus (SLE) vagy antifoszfolipid-szindróma (APS) megléte és az előzményben kis súlyú újszülött születése (SGA), és változott a program a MAP, MAP MoM és az UtA-PI MoM számításának algoritmusában is.

Az A2 szoftver az általa kalkulált praeclampsia rizikót minden páciensnél három csoportba sorolta:

1. Korai praeclampsia rizikó ($PE < 34.$ hét)
2. Praeclampsia rizikója a terhesség 34-37.hete között (PE_{34-37})
3. Praeclampsia rizikója a 37. terhességi hét után ($PE > 37$)

A 2. és a 3. csoport összevonva alkotja a késői praeclampsia csoportot.

A praeclampsia rizikóját az összes praeclampsziával szövődött terhességben, valamint az egészséges kontrollokban az A1 és A2 programokkal háromféle módon is meghatároztuk, és az eredményeket összehasonlítottuk.

1. Csak az anyai jellemzők és az ultrahangvizsgálat során mért biometriai értékek alapján
2. Az anyai jellemzőket, az ultrahanggal mért paramétereket és a PAPP-A hormon értékeket felhasználva
3. Anyai karakterisztika, ultrahanggal mért paraméterek és PAPP-A, illetve PIGF hormonok értékeinek együttes felhasználásával (a PIGF értékeket a rizikóbecsléshez csak az A2 program használta).

3.1.4. Statisztikai módszerek a tanulmány 2.1 részéhez

A statisztikai analízishez R-project v.3.5. szoftvert használtunk (R Core Team, 2018). A változók jellemzésére leíró statisztikákat (medián, kvartilisek, átlag, szórás és esetszám) adtuk meg. A nem-standard eloszlású változók esetén logaritmikus transzformációt alkalmaztunk. A csoportok közötti összehasonlításhoz párosítatlan t-próbát és egy szempontos variancia elemzést (ANalysis Of VAriance - ANOVA) végeztünk. A variancia elemzést (ANOVA-t) a csoportok páronként történő összevetésére alkalmas Tukey-HSD posthoc teszttel egészítettük ki. Student-féle párosított t-teszttel elemeztük a paraméterekben (MAP, MAP MoM, UtA-PI) bekövetkező változásokat. A magyarázó változókat ROC görbe analízissel (pROC package) (Xavier R, 2011) vizsgáltuk és meghatároztuk az optimális küszöbértéket, illetve a görbe alatti területet (AUC). A számolások során a $p \leq 0.05$ valószínűségi értékeket fogadtuk el szignifikánsnak.

3.2. Betegbeválogatás a tanulmány 2.2 részéhez

3.2.1. A proteomikai vizsgálat protokollja

Az izraeli vizsgálat során leírt immunfehérjék magyarországi validációs vizsgálatához a saját első trimeszteri prospektív

mintagyűjteményünkben 5 korai súlyos praeclampsziával és SGA magzat születésével végződött szinguláris terhességből és 10 illetett egészséges, komplikációmentes terhességből származó megfelelően illetett kontrolltól származó mintákat válogattunk.

A súlyos praeclampsziát Sibai és mtsi publikációja alapján definiáltuk. Az SGA definíciója: 10% súlypercentil alatti újszülöttkori súly.

Az izraeli mintákon változó mennyiségben észlelt 26 fehérje közül 10, immunfolyamatokban szerepet játszó fehérje vizsgálata nem a korábban alkalmazott 2D-DIGE módszerrel, hanem folyadék kromatográfia tömeg spektroszkópia multiple reaction monitoring (MRM) segítségével történt.

3.2.2. Minta preparálás

HPLC grádusú oldószert alkalmaztunk (Sigma-Aldrich cég, St. Louis, MO, USA). A fagyasztott szérum mintákat denaturáló puffer segítségével (Biognosys AG; Schlieren, Switzerland) készítettük elő. A minták alkilálása Biognosys alkiláló oldattal történt, az emésztést tripszinnel végeztük (Promega; Madison, WI, USA), 50:1 protein proteáz aránnyal. A minták C18-as tisztítása a tömeg spektrométerhez a gyártó instrukciónak megfelelően történt C18 Micro Spin oszlopokat felhasználva (Nest Group Inc.; Southborough, MA, USA). A peptidek szárítására SpeedVac rendszert alkalmaztunk. A szárított peptideket LC-A oldószerral oldottuk fel ismét (1% acetonitril vízben, 0.1%-os hangyasav oldatban). A végső peptid koncentrációkat 280nm-en határoztuk meg (SpectrostarNANO, BMG Labtech, Offenburg, Germany). A fehérje minták azonosítása PlasmaDive™ (Biognosys) referencia peptid mixszel történt.

3.2.3. LC – MRM

A peptideket (1 μ g/minta, mely megegyezik az eredeti plazma minta 0.0259 μ l-vel) C18 oszlopba injektáltuk (75 μ m belső átmérő, 10 cm oszlop hossz, Woburn, MA, USA), Az oszlop anyaga Magic AQ-volt, 3 μ m részecske-, és 200 Å pórus mérettel) ThermoScientific EASY-n LC1000 nano-liquid kromatográfia rendszert alkalmazva. LC-MRM esszéket ThermoScientific TSQ Vantage triple quadrupole tömeg spektrométeren mérték meg. Az LC grádiens az LC–MRM-hez 6–40% B oldószer volt (85% acetonitril vízben 0.1%-os hangyasavval) 30 percig, melyet 40–94% B oldószer követett 2 percig és 94%-os B oldószer 8 percig (teljes időintervallum 40 perc). Biognosys PlasmaDive™ MRM panelt használtunk a 10 immunfehérje mérésére. A mintákban található peptidek mennyiségi meghatározására TSQ Vantage-ot alkalmaztunk ütemezett MRM módban 5 perces ablakkal. Az LC eluens-t 1.9 kV-on elektroprayeztük és a Q1/Q3-at 0.7 Da-os egységnyi felbontáson működtettük. A jelfeldolgozást és az adatok elemzését SpectroDive™ 8.0—Biognosys szoftver segítségével végeztük. 1%-os q-érték filtert alkalmaztunk.

3.2.4. Statisztikai módszerek a tanulmány 2.2 részéhez

A validációs pilot tanulmány kis beteganyagára tekintettel, annak érdekében, hogy a statisztikai szimulációk és a tanulmány ereje és szignifikancia szintje értékelhető legyen, többszörös permutációs tesztet végeztünk. A szignifikancia vizsgálatokat a két csoport között páros-t, és Mann-Whitney tesztekkel végeztük. Mindkét esetben $p < 0,05$ szintet használtunk a sikeres szimulációhoz. A sikeres szimulációkat többféle mintaszámmal is elvégeztük ($n = 10$ vagy 100) és ($n = 100$, vagy 1.000). A szimulált szignifikancia szintet $p < 0,05$ értéknél fogadtuk el, ha a sikeres szimulációk nagysága meghaladta a 25%-ot.

4. Eredmények

4.1. A prospektív adat- és mintagyűjtés eredményei

A prospektív mintagyűjtés során összesen 2545 páciens beválogatása történt meg. A vizsgálat alatt sem Debrecenben, sem Nyíregyházán nem fordult elő nem kívánatos esemény. A terhesek utánkötése 2015.01.01-re fejeződött be, mivel többen nem a szűrővizsgálatot végző intézményben szültek, így azoknak a terhességeknek a kimenetelét az illetékes kórháztól kellett beszereznünk, ami néhány esetben hosszabb nyomozást igényelt. A 2545 beválogatott páciens közül 294 esetben nem sikerült információt szerezni a terhesség kimeneteléről. A fennmaradó 2251 terhességből 2223 végződött élveszüléssel. Kilenc esetben történt terhességmegszakítás magzati aneuploidia vagy multiplex fejlődési rendellenesség miatt. Tizenegy esetben vetélés következett be és 8 esetben történt intrauterin elhalás.

A retrospektív tanulmányba csak a szinguláris terhességeket vontunk be, azaz a 23 ikerterhességet kizártuk. A 2200 terhességből 82 eset végződött praeclampsiaival (3.7%, 82/2200). A korai praeclampsia előfordulási aránya 0.5%-nak (11/2200), míg a késői praeclampsia gyakorisága 3.2%-nak (71/2200) adódott.

4.2. A praeclampsia-szűrés hatékonyságát elemző tanulmányba bevont terhespopuláció jellemzői

A praeclampsiaival szövődött esetek és a kontrollcsoport között nem találtunk szignifikáns különbséget az anyai életkor, illetve a beválogatáskor mért terhességi kor tekintetében, ugyanakkor a praeclampsiaival szövődött esetekben az anyai BMI szignifikánsan magasabb a kontrol csoporthoz képest. A praeclampsia szempontjából

meghatározó belgyógyászati betegségeket tekintve a krónikus magas vérnyomással és inzulin dependens cukorbetegséggel szövődött terhességek jelentős hányada a PE 34-37. hét közötti kialakulásával végződő csoportban fordult elő. A korábbi szülések tekintetében nem volt szignifikáns különbség a praeclampsia alcsoportokban, ugyanakkor a praeclampsia első trimeszteri rizikóbecslésében is szerepet játszó előzményi adatok közül a korábbi terhességekben előforduló praeclampsia szignifikánsan magasabb arányban szerepelt a 34-37 hét közötti praeclampsia csoportban.

Az A1 és A2 programot összehasonlítva szignifikáns különbség mutatkozott a MAP, MAP MoM, és UtA-PI MoM számításában. Az A1 és A2 programmal történő kalkuláció során a legnagyobb eltérés a várt medián értéktől a PIGF értékekben mutatkozott, 1.239 MoM.

Szignifikáns különbség mutatkozott az anyai testsúly, BMI, BP MoM, UtA-PI MoM, PIGF MoM, PAPP-A MoM között a praeclampsias és a kontrollcsoport összehasonlításakor. Habár a PIGF értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a PE csoportban a kontrollcsoporttal összehasonlítva, a PIGF medián értékei az FMF algoritmussal kalkulálva jobbra tolódtak A ROC görbe alapján a vérnyomás MoM, UtA-PI MoM, és a testsúly, valamint a BMI mutatott szignifikáns befolyást a PE első trimeszteri előrejelzésében.

4.3. Praeclampsia alcsoportok vizsgálata

A praeclampsia alcsoportok és a kontrollcsoport között is elvégeztük az összehasonlításokat mindkét szoftverrel. Szignifikáns különbség mutatkozott az anyai testsúlyban a ktrl (60kg) vs. PE 34-37 (80kg) között, valamint a ktrl (60kg) vs. PE>37 (71.5kg) csoportok között. A BMI tekintetében mind a három PE csoport és a kontrollcsoport (22kg/m^2) között szignifikáns volt a különbség, és a vérnyomás MoM-ok is hasonló különbségeket mutattak, szignifikáns

különbség igazolódott a PE>37 (1.135MoM) vs. PE34-37 (1.19MoM) csoportok között. Az UtA-PI a ktrl (1.09MoM) vs. PE<34 (0.93MoM) és a ktrl (1.09MoM) vs. PE>37 (1.045MoM) csoportok összehasonlításában mutatott szignifikáns különbségeket. Szignifikáns különbség igazolódott a PAPP-A MoM értékek vonatkozásában a ktrl (1.1755MoM) vs. PE<34 (0.836MoM) csoportban. A PIGF MoM értékek csak a ktrl (1.284MoM) vs. PE34-37 (1.086MoM) csoportok között mutattak szignifikáns eltérést.

4.4. A1 és A2 program detekciós aránya más és más bemeneti adatokat használva

Megvizsgáltuk, hogy a két különböző Astraia programmal milyen hatékonysággal lehetséges az első trimeszterben jelezni a praeclampsia kialakulását attól függően, hogy a szűrés során vizsgált paraméterek közül melyeket veszünk figyelembe a kockázatbecslés alkalmával.

A kockázatokat a korábban már említett háromféle paraméter beállítással végeztük:

1. Anyai demográfiai adatok, biometriai mérések és UtA-PI használatával
2. Anyai demográfiai adatok, biometriai mérések és UtA-PI használatával + PAPP-A
3. Anyai demográfiai adatok, biometriai mérések és UtA-PI használatával + PAPP-A + PLGF (PIGF csak az A2 szoftver esetén volt alkalmazható)

Az A1 szoftver a 11 korai PE esetből 7 (63.6%, 7/11) esetben jelezte a magasabb rizikót az anyai alap kockázat UtA-PI és a vérnyomás értékek alapján, biokémiai eredmények nélkül. Amennyiben

a rizikóbecsléshez a PAPP-A eredményét is felhasználtuk, romlott a detekciós ráta (54.5%, 6/11). A 71 késői praeclampsziás esetből 48-at jelzett (67.6%, 48/71) a PAPP-A nélkül és 46-ot (64.8%, 46/71) a PAPP-A figyelembe vételével. A fals pozitív ráta a 82 kontrol esetében 6% (5/82) volt mindkét kalkulációval. Az A2 szoftver a biokémiai markerek nélkül a 11 korai-PE esetből ugyancsak 7 (63.6%, 7/11) alkalommal jelezte a PE emelkedett kockázatát. Nyolc esetben (72.7%, 8/11) mutatott pozitív szűrési eredményt, amennyiben PAPP-A hormon eredmény is hozzáadtuk a rizikó számításához.

A PIGF, mint kiegészítő biokémiai marker azonban csökkentette a detekciós arányt, ugyanis a PIGF és PAPP-A együttes figyelembe vételével csak 5 esetben lett pozitív a szűrési eredmény (45.5%, 5/11) a korai-PE csoportban.

A 11 terhes közül, akiknek a 34-37 hét között alakult ki a praeclampsziájuk, tíznek lett pozitív a szűrési eredménye (90.1%, (10/11)) akár figyelembe vettük a PAPP-A hormon eredményt, akár nem. Amennyiben a rizikóbecslést PIGF mérésével is kiegészítettük, úgy a detekciós arány 72.7%-ra (8/11) csökkent. A 37. hét után jelentkező PE csoportban a detekciós ráta 50% (30/60), 48.3% (29/60) és 51.7%, (31/60) volt attól függően, hogy a kockázatbecslést a biokémiai markerek nélkül, csak a PAPP-A, illetve a PAPP-A és PIGF együttes figyelembe vételével végeztük.

4.5. Immunfehérjék magyarországi validációs vizsgálatának eredményei

A Beta-2-glycoprotein 1, a Complement C1q subcomponens subunit B, a Complement factor B, a Complement C4-A, a Histidine-rich glycoprotein, a Kininogen-1 és a Plasminogen szintje mutatott szignifikáns különbséget a praeclampsziával szövődött terhességek

esetén a kontroll minták szérumkoncentrációjához képest, azonban a fehérje koncentrációk változásának iránya praeclampsia esetén a fent említett fehérjék közül a Beta-2-glycoprotein 1, a Complement factor B, a Complement C4-A és a Histidine-rich glycoprotein esetén egyezett meg az izraeli tanulmánnyal.

5. Megbeszélés

5.1. A praeclampsia első trimeszteri szűrésének eredményei

Tudomásunk szerint Magyarországon ez az első nagy esetszámú prospektív tanulmány a praeclampsia első trimeszteri szűrésének vizsgálatára. A praeclampsia kockázatbecslését olyan szoftverekkel végeztük, amelyekben a kalkulációk alapját az Egyesült Királyságban, főleg az ottani betegpopuláción végzett vizsgálatok képezték. A korábbi, nem az Egyesült Királyságban végzett tanulmányok felvetették, hogy az anyai alap rizikó számos populációban eltérő lehet, ami felveti az igényt, hogy az anyai alaprizikót, továbbá a biofizikai biokémiai eredményeket populációspecifikusan módosítsuk a pontosabb rizikóbecslés érdekében.

Saját tanulmányunk eredményeit összehasonlítva az FMF publikációival (89.2%), detekciós arányunk minden praeclampsia alcsoportban alacsonyabbnak mutatkozott. Amennyiben más, nem kutatói körülmények között végzett tanulmányokkal is összevetjük eredményeinket, akkor kijelenthető, hogy azok hasonlóak az egyéb, nem Egyesült Királyságban végzett tanulmányok eredményeihez és konklúzióihoz.

A korai praeclampsia szűrés hatékonysága magasabb volt az A2, mint az A1 szoftverrel amennyiben az anyai demográfiai adatokat, biometriai paramétereiket, valamint PAPP-A hormont használtuk a

rizikóbecsléshez, köszönhető ez a szűrési algoritmusokban bevezetett fejlesztéseknek. Eredményünk is megerősíti tehát, hogy a rutin klinikai gyakorlatban az A2 szoftvert javasolt alkalmazni.

A késői praeclampsia detekciós aránya saját anyagunkban az irodalmi adatokhoz hasonlóan alacsonyabb, mint a korai praeclampsia csoportban. Az ok, a betegség etiológiájában keresendő. A késői praeclampsia főleg az anyai kardiovaszkuláris faktorokkal áll összefüggésben, és a programok algoritmusából kiderül, hogy ezen faktorok közül számos szerepel, mint alaprizikót meghatározó tényező. Tekintettel arra, hogy ezen rizikó faktorok egy adott ország vagy régió sajátossága, elengedhetetlen, hogy ezek a kockázatbecslésnél populációs-specifikusan legyenek figyelembe véve.

5.1.1. A biokémiai mérések jelentősége

A vérnyomás MoM, BMI, testsúly és az UtA-PI bizonyultak vizsgálatunkban a legerősebb markereknek a praeclampsia korai előrejelzésében, és ezek az eredmények konzisztensek más tanulmányok eredményeivel.

Korábbi vizsgálatok szoros kapcsolatot mutattak ki az alacsony PAPP-A szint és a praeclampsia között, de későbbi FMF tanulmányok rávilágítottak arra, hogy más markerekkel való kombinációban jelentősége lényegesen lecsökken. A PAPP-A kimagaslóan hasznos marker a kromoszóma-rendellenességek első trimeszteri szűrésében, és saját eredményeink szerint a praeclampsia-szűrés hatékonyságát is képes volt növelni, jóllehet nem mind a három praeclampsias alcsoportban. A fals pozitív ráta csökkentésében is hatékonynak látszik, de a kontrollcsoport kis esetszáma és a válogatás főbb szempontjai alapján ez csupán statisztikai véletlen is lehet. Ezt a kérdést a későbbiekben nagyobb esetszámú tanulmány keretében érdemes megvizsgálni.

Mindenesetre addig is kijelenthető, hogy amennyiben a rutin klinikai gyakorlatban más biomarker meghatározás nem történik, de a PAPP-A szérumszintje a magzati triszómiák szűrésére használt kombinált tesztnek köszönhetően ismert, a PAPP-A eredményének felhasználása a praeclampsia rizikóbecslésére javasolható.

5.1.2 PIGF

Saját anyagunkban a PIGF a rizikóbecslésben nemcsak, hogy nem javította a detekciós arányt, hanem a legtöbb tanulmánnyal ellentétben, növelte a fals pozitív rátát. Ennek magyarázataként elsődlegesen az merül fel, hogy a mi teljes vizsgálati populációnkban a mért PIGF koncentrációk az FMF szoftver által alkalmazott eloszlási görbén a magasabb tartomány irányába, jobbra tolódtak. (1.215 MoM vs. 1.284 MoM). Az FMF algoritmus a biokémiai eredményeket az angolszász populációban nyert adatok alapján konvertálja MoM értékekbe. Valószínűsíthetően a PIGF normál eloszlási görbéje mind a kontroll, mind pedig a PE csoportban számos oknak köszönhetően eltérő a kelet-európai terhespopulációban. Hasonló típusú PIGF eltérések tapasztalhatóak voltak a közel-keleti, illetve dél-amerikai terhespopulációkon végzett első trimeszteri korai praeclampsia rizikóbecslés során.

Úgy véljük, a praeclampsia első trimeszteri rizikóbecslése különösen a korai praeclampsziára hazánkban és a többi kelet-európai országban is az által lenne jelentősen javítható, ha a PIGF MoM értékeket a magyarországi, illetve a szűrés bevezetését megelőzően az adott populáció eloszlási görbéjének megfelelően korrigálná a kockázatbecslésre javasolt szoftver. Ennek megvalósítása érdekében szükség van egy nagyobb terhespopuláción végzett tanulmány keretében a magyarországi populációra karakterisztikus eloszlási görbék kidolgozására.

Saját tanulmányunk ugyanakkor egyértelmű bizonyítéka annak is, hogy szükség van további új, hatékony biomarkerek kutatására, melyekkel a jelenlegi szűrési hatékonyságot emelhetjük, illetve a fals pozitív rátát csökkenthetjük. Amennyiben sikerülne olyan biomarkereket azonosítani, amelyek a praeclampsia kockázatbecslésében jelenleg meghatározó anyai biometriai és biofizikai jellemzők nélkül önmagukban magas szenzitivitással és specificitással képesek lennének előre jelezni a praeclampsia emelkedett rizikóját, maga a szűrőmódszer lényegesen egyszerűsíthető lenne.

5.1.3 A kelet-európai régió praeclampsia-szűrésének költség-hatékony lehetőségei

Gazdasági jellemzőit tekintve a kelet-európai társadalom szocio-ökonómiai statusa alacsonyabb a nyugat-európai társadalmakhoz képest. A legtöbb kelet-európai országban az ott élők jelentős hányada az állami egészségügyi rendszert veszi igénybe, amely csaknem mindenütt kizárólag az első trimeszteri ultrahangvizsgálatot finanszírozza. A biokémiai markerek eredményeit is számításba vevő kombinált teszt csak a privát szektorban érhető el.

Biokémiai szűrővizsgálatok nélkül az A2 szoftverrel korai praeclampsziára 63.6%-os (7/11), késői praeclampsziára 56.3%-os (40/71) szűrési hatékonyságot sikerült elérnünk. Ez az eredmény rávilágít arra, hogy a rutin klinikai gyakorlatban a standardizált módon felvett anyai előzményi adatok és a standardizált módon, FMF irányelveknek megfelelően elvégzett első trimeszteri ultrahang vizsgálat során nyert mérési eredmények (vérnyomás és UtA-PI) felhasználásával elfogadható szűrési hatékonyságot tudunk biztosítani a társadalom egy jelentős részének.

Az anyai előzményi adatok felvételének pontossága, az ultrahang vizsgálat standardizáltsága, reprodukálhatósága és a vizsgálók évenkénti auditálása elengedhetetlen feltétele a korrekt kockázatbecslésnek. A standardizált mérési technikák legátfogóbb protokolljait az FMF ajánlások képezik, melyek közül a praeclampsia rizikóbecslésben az UtA-PI, CRL, és vérnyomás mérése a legfontosabb.

5.2 Új biomarker vizsgálatok – proteomika

Az etnikai és metodikai különbségek ellenére az MRM a tíz vizsgált immunfehérjéből négy esetben tudta igazolni a korábbi izraeli tanulmányban kimutatott, de 2D-DIGE metodikával végzett vizsgálat eredményeit. Eddig öt tanulmány tudta megerősíteni a korai praeclampsia csoportban általunk is látott fehérjekoncentráció mintázatot, jóllehet más technológiákat alkalmazva, és csak a második és harmadik trimeszterben detektálva ezt. Ez alátámasztja azt a tényt, hogy a későbbiekben korai praeclampsiaival szövődött terhességekből származó első trimeszteri szérum mintákban már jelen vannak a korai pro-inflammatórikus változások. Mivel általános vérfehérjéről van szó, az is lehetséges, hogy már a vizsgálataink időpontja, a terhesség 11-13. hete előtt is megváltozott mennyiségben vannak jelen az anyai keringésben praeclampsiasokban.

Irodalmi adatok alapján az első trimeszteri anyai proteomikai vizsgálatok több olyan biomarkert mutattak ki, melyek összefüggésbe hozhatóak nemcsak az immunrendszerrel, hanem a renin-angiotenzin-aldoszteron tengellyel, a komplement, illetve a koagulációs rendszerrel, mind a korai, mind a késői praeclampsia csoportban. Az általunk végzett magyarországi validációs vizsgálat során igazolt megváltozott anyai szérum proteinek adataiból nyert információk felhasználásával a későbbiekben olyan újabb validációs vizsgálatok valósíthatóak meg jelentősen nagyobb esetszámú mintán, amelyeknek az eredménye az

előbb említett útvonalakban szerepet játszó fehérjékben bekövetkező változások kimutatásával a terhesség első trimeszterében végzett praeclampsia-szűrés hatékonyságát jelentősen tudnák növelni.

A költségghatékony szűrőmódszer kidolgozását követően ismételten vissza lehetne nyúlni a már több mint 30 éve publikált megfigyeléshez, melyet eddig több tízezer beteg vizsgálatával igazoltak, miszerint kis dózisu acetilszalicilsav szedésével csökkenthető a praeclampsia prevalenciája. Az acetilszalicilsav gyulladásgátló és thrombocytá aggregációt gátló hatása a korai gyulladós mediátorok szintjének csökkentése révén tudja mérsékelni a praeclampsia prevalenciáját. A gyulladással összefüggő fehérjék magasabb koncentrációját mutató terhesek esetében az acetilszalicilsav terápia valószínűleg hatékonyabb lehet, mint azoknál, akiknél a magas vérnyomásért felelős fehérjék megváltozása markánsabb a terhesség első trimeszterében. Ezzel magyarázható lenne, hogy miért nem tudott az acetilszalicilsav terápia jelentős eredményeket elérni a már korábban is krónikus magas vérnyomásban szenvedő betegek körében akkor sem, ha az acetilszalicilsav terápiát már az első trimeszterben elindították, ellentétben azokkal, akiknek nem volt krónikus magas vérnyomásuk, de az első trimeszteri praeclampsia-szűrésen észlelt magas rizikó miatt profilaxisban részesültek.

6. Konklúzió

A praeclampsia (PE) jelentős népegészségügyi problémát jelent, és szűrése nem megoldott

Célkitűzésünk volt, hogy a Fetal Medicine Foundation (FMF) által kidolgozott és javasolt algoritmusokkal magyarországi, nem szelektált terhespopulációban vizsgáljuk a PE szűrés hatékonyságát, elemezve az anyai adatok, biofizikai és biokémiai markerek szerepét a

kockázatbecslésben. Hosszabb távú célkitűzésünk proteomikai módszerekkel a szűrővizsgálatokban hatékonyan alkalmazható további biomarkerek kutatása. Ennek első lépcsőjeként saját mintáinkon kívántunk validálni egy korábbi első trimeszteri izraeli vizsgálatban leírt 10 immunproteint.

Prospektív tanulmányunkba tájékozott beleegyezést követően 2.545 gravidát vontunk be a terhesség első trimeszterében történő rutin ultrahangszűrés során, és retrospektív vizsgálatunkhoz az így nyert adatbázisból és mintagyűjteményből válogattunk 82 PE-val szövődött esetet, illetve 82 illesztett kontrollt. A PE első trimeszteri rizikóbecslésére két, kereskedelmi forgalomban elérhető szoftver segítségével végeztük. A proteomikai vizsgálatban öt PE-val szövődött terhességből származó mintát hasonlítottunk össze tíz egészséges kontroll mintával.

Az Astraia 2.3.1 szoftverrel az anyai előzményi adatok, BMI, artériás középnyomás és artéria uterina pulzatilitási index (UtA-PI) számításba vételével 63.6% volt a korai-, míg 67.6% a késői PE detekciós aránya (DR). A biokémiai markerek közül a placenta associated plasma protein A (PAPP-A) bevonása a kockázatbecslésbe a DR csökkenését eredményezte. Astraia 2.8.2 szoftverrel, biokémiai markerek nélkül a DR a korai PE-ra 63.6%-nak, míg késői PE-ra 56.3%-nak adódott. PAPP-A méréssel kiegészítve a rizikóbecslést, a DR 72.7%-ra emelkedett korai-, és 54.9%-ra csökkent késői PE esetén. A placental growth factor (PIGF) biomarker hozzáadása a kockázatbecsléshez egyik PE csoportban sem emelte a szenzitivitást. Az immunproteomikai vizsgálat során az izraeli terhespopulációban korábban eltérő metodikával talált, preeclamsziában megváltozott expresszivitást mutató tíz immunfehérje közül négynek a szerepét sikerült megerősíteni.

Kijelenthető, hogy az első trimeszteri rutin ultrahang vizsgálat során a PE szűrés kivitelezhető, a kockázatbecslésre az Astraia 2.8.2 szoftver

ajánlható. A PIGF vélhetően azért nem tudta javítani a szűrés hatékonyságát, mert az algoritmus az angolszász populációban nyert adatok alapján kalkulál, ezért kelet-európai terhespopulációra karakterisztikus új PIGF eloszlási görbék készítése szükséges. Proteomikai vizsgálatunkkal igazoltuk, hogy PE-ban már a terhesség első trimeszterében is megváltoznak a többségében eddig csak a későbbi gesztációs korokban vizsgált immunfehérjék. Ezen fehérjék szűrési algoritmusba integrálásával feltételezhetően tovább emelhető a PE szűrés hatékonysága, melyhez új, nagyobb betegszámon végzett validációs tanulmány szükséges.

7. Summary

Despite the role preeclampsia (PE) plays in perinatal feto-maternal mortality/morbidity, no widely accepted screening method exists for it as yet.

Our primary goal was to test in routine clinical practice the efficacy of first trimester Fetal Medicine Foundation (FMF) screening algorithms for PE and investigate the role of different maternal factors in risk calculation. We also looked for other biomarkers and validate on Hungarian first trimester blood samples the distribution of 10 immune proteins, previously described in Israel, in PE and in healthy controls.

Our retrospective study was performed on a prospectively collected database (82 PE-, and 82 controls) and on samples from 2.545 unselected pregnant women between 2010 and 2013 during routine first-trimester ultrasound screening.

Patient specific individual risks for preeclampsia in the first trimester were assessed using two commercially available risk-assessing FMF algorithms. For the proteomic study 5 PE and 10 control samples were selected and compared.

Combining maternal characteristics and biophysical parameters, Astraia 2.3.1 program had a 63.6% detection rate (DR) for early- and 67.6% for late-PE. Using an additional biomarker such as placenta associated plasma protein A (PAPP-A) in risk assessment lowered DRs to 54.5% and 64.8%, respectively. Combining maternal characteristics and biophysical parameters, Astraia 2.8.2 program produced a 63.6% and 56.3% DRs for early-, and late-PE. PAPP-A biomarker increased DR to 72.7% in early-PE and decreased to 54.9% in late-PE. Placental growth factor (PIGF) decreased DRs in both PE groups. Despite the different populations and methods, 4 of the 10 immunoproteins showed the same patterns in PE in our study as in the Israeli study.

In conclusion, first trimester screening for PE based on maternal characteristics, biophysical parameters, and PAPP-A is feasible in routine clinical practice. It is the distribution curve of PIGF concentrations that is most likely to be different in Hungarian patients, compared to Anglo-Saxon populations. This could explain our finding that adding PIGF to risk calculation could not improve screening efficacy. In agreement with previous reports we advise creating new Eastern European distribution curves for PIGF. Since most of the immune-proteomics changes described in the second and third trimesters of pregnancy originate from the first trimester, using this proteomics pattern, the detection rate for early-, and late-preeclampsia in the first trimester might be increased. Further validation studies are required to investigate this theory.

8. Az értekezés új tudományos eredményei

1. Magyarországi terhespopuláción elsőként igazoltuk, hogy a praeclampsia első trimeszteri szűrése kivitelezhető a rutin klinikai gyakorlatban.
2. A rutin klinikai gyakorlatban az FMF irányelveknek megfelelően felvett anyai előzményi adatok és a standardizált módon elvégzett első trimeszteri vizsgálatok során nyert mérési eredmények (vérnyomás és UtA-PI) felhasználásával 63%-os első trimeszteri korai praeclampsia szűrési hatékonyság biztosítható a várandósgondozásban jelenleg is kötelezően előírt első trimeszteri ultrahangszűrés során.
3. A magyarországi terhesek biokémiai, valamint biometriai jellemzői eltérnek a nyugat-európai terhespopuláción végzett tanulmányok eredményei alapján várttól.
4. A kelet-magyarországi populációban a PIGF első trimeszteri szérum koncentrációi jöllehet alacsonyabbnak bizonyultak a praeclampsiaával szövődött terhesek szérum mintáiban összehasonlítva a kontrollcsoport eredményeivel, azonban mind a praeclampsias, mind a kontrollcsoportban a nyugat-európai standardok alapján számított MoM értékek mediánja a magasabb tartomány irányába tolódott, ezért nem javította a PIGF eredmények figyelembe vétele a kockázatbecslés során a detekciós rátát.
5. Első trimeszteri mintáinkon történt proteomikai vizsgálat során igazolást nyert, hogy a várandósok szérum mintáiban már az első trimeszterben kimutatható olyan immunfehérjék megváltozott szintje, amelyeket más

tanulmányok a második és a harmadik trimeszterben közöltek, így újabb bizonyítékot nyertünk arra vonatkozóan, hogy a lepényi patológiás folyamatok következményei már a terhesség első trimeszterében felfedezhetőek.

9. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek Dr. Török Olga tanárnőnek a több éves kitaró támogatást, melyet 4. éves orvostanhallgató korom óta töretlenül megkapok. A Professor Kypros Nicolaidessel való megismerkedésem és a két éves külföldi ösztöndíj programom megvalósulásában is meghatározó szerepet játszott. A jövő kutatási irányát meghatározó együttműködés létrehozását Than Nándor Gáborral és kutatócsoportjával ugyancsak Tanárnőnek köszönhetem, és a továbbiakban őszinte lelkesedéssel szeretném folytatni a megkezdett munkát.

Hálával tartozom Kypros Nicolaides professzornak, aki világszerte elismerten az anyai-magzati medicina egyik vezéregyénisége napjainkban. Köszönöm a tapasztalatok átadását Nicolaides professzor valamennyi, az ösztöndíjas éveim alatt ott dolgozó munkatársának is.

Köszönöm Tóth Zoltán Professor Úrnak és Póka Róbert Professor Úrnak, hogy segítették, egyengették szakmai fejlődésemet, hozzájárultak külföldi tanulmányutamhoz, támogatták a praeclampsia kutatás elindítását, és Angliából történő hazaérkezésemet követően biztosították a feltételét annak, hogy a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján elindulhasson a magzati szívultrahang-szűrés, melynek szakmai felügyeletét testvéremmel Dr. Orosz Gergő Balázssal látom el.

Köszönöm Dr. Than Nándor Gábornak, hogy a létrejött kutatási együttműködés keretében az MTA Lendület pályázatából már eddig is

jelentős anyagi támogatást nyújtott a vizsgálatok elvégzéséhez és szakmai tanácsaival is segítette az eredmények publikálását.

Köszönöm a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Szülészeti és Nőgyógyászati Intézet jelenlegi igazgatójának, Dr. Lampé Rudolfnak, hogy támogatásáról biztosított a jelenlegi PhD munkám további folytatásához szükséges szakmai és tárgyi feltételek megteremtésében.

Köszönöm a klinika valamennyi munkatársának, elsősorban az ultrahang laboratórium dolgozóinak a rengeteg segítséget és támogató hozzáállást, melyet az elmúlt évek során kaptam.

Tudományos munkámat családomnak ajánlom, akiktől minden lehetséges segítséget, támogatást és iránymutatást megkaptam a kezdetektől, és akik nélkül most nem tarthatnék itt.

10. Publikációs lista



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

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

Nyilvántartási szám: DEENK/26/2020.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Orosz László
Neptun kód: G7GMNY
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10032549

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Orosz, L., Orosz, G. B., Veress, L., Dósa, D., Orosz, L., Arany, I., Fábán, A., Medve, L., Pap, K., Karányi, Z., Tóth, Z., Póka, R., Than, N. G., Török, O.:** Screening for preeclampsia in the first trimester of pregnancy in routine clinical practice in Hungary.
J. Biotechnol. 300, 11-19, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.04.017>
IF: 3.163 (2018)
2. **Than, N. G., Romero, R., Tarca, A. L., Kékesi, K. A., Xu, Y., Xu, Z., Juhász, K., Bhatti, G., Leavitt, R. J., Gelencsér, Z., Pálhalmi, J., Chung, T. H., Györfly, B., Orosz, L., Demeter, A., Szécsi, A., Hunyadi-Gulyás, É., Darula, Z., Simor, A., Eder, K., Szabó, S., Topping, V., El-Azzam, H., LaJeunesse, C., Balogh, A., Szalai, G., Land, S., Török, O., Dong, Z., Kovalszky, I., Falus, A., Meiri, H., Draghici, S., Hassan, S. S., Chaiworapongsa, T., Krispin, M., Knöfler, M., Erez, O., Burton, G. J., Kim, C. J., Juhász, G., Papp, Z.:** Integrated Systems Biology Approach Identifies Novel Maternal and Placental Pathways of Preeclampsia.
Front. Immunol. 9, 1-41, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.01661>
IF: 4.716
3. **Gyöngyösi, A., Dócs, O., Czimmerer, Z., Orosz, L., Horváth, A., Török, O., Méhes, G., Nagy, L., Bálint, B. L.:** Measuring expression levels of small regulatory RNA molecules from body fluids and formalin-fixed, paraffin-embedded samples.
Methods Mol. Biol. 1182, 105-119, 2014.
DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-1062-5_10
4. **Orosz, L., Lukács, J., Szabó, M., Kovács, T., Zsupán, I., Orosz, G. B., Tóth, Z., Török, O.:** Long-term Outcome of Pregnancies with Increased Nuchal Translucency and Normal Karyotype.
DSJUOG. 3 (3), 53-59, 2009.





További közlemények

5. Szőke, J., Lukács, J., **Orosz, L.**, Póka, R.: Az első trimeszterben felismert 15 cm-es nyomás góc sikeres eltávolítása: esetismertetés.
Magy Noorv Lapja. 81 (5), 13-18, 2018.
6. Molnár, G., **Orosz, L.**, Vizer, M.: A fetoszkópia alkalmazása iker-iker transzfúziós szindrómában.
In: Nőgyógyászati Laparoszokópia és Hízteroszokópia / Gergő György, Molnár-G. Béla, Orosz László, Semmelweis Kiadó, Budapest, 311-315, 2017.
7. Török, P., **Orosz, L.**, Jakab, A.: Birth after Hysteroscopic Intrauterine Insemination at Labial Adhesion.
Austin J. Reprod. Med. Infertil. 3 (1), 1-2, 2016.
8. Peeva, G., Bower, S., **Orosz, L.**, Chaveeva, P., Akolekar, R., Nicolaidis, K. H.: Endoscopic Placental Laser Coagulation in Monochorionic Diamniotic Twins with Type II Selective Fetal Growth Restriction.
Fetal Diagn. Ther. 38 (2), 86-93, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000374109>
IF: 2.7
9. Chaveeva, P., Kosinski, P., Birdir, C., **Orosz, L.**, Nicolaidis, K. H.: Embryo Reduction in Dichorionic Triplets to Dichorionic Twins by Intrafetal Laser.
Fetal Diagn. Ther. 35 (2), 83-86, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000356950>
IF: 2.939
10. Fodor, A., Györfy, A., **Orosz, L.**, Major, T.: Haemorrhéologiai változások és azok klinikai jelentősége praeeclampsziában.
Orv. Hetil. 152 (6), 205-211, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2011.29031>

A közlő folyóiratok összesített impact faktora: 13,518

A közlő folyóiratok összesített impact faktora (az értekezés alapjául szolgáló közlemények): 7,879

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

Debrecen, 2020.02.13.

