

# **A csontrendszer fejlődését és struktúráját érintő megbetegedések genetikai vizsgálata újszülöttkorban**

A koraszülöttek oszteopéniájának molekuláris genetikai marker vizsgálata

**Doktori (Ph.D.) értekezés**

**Dr. Funke Simone**

Pécsi Tudományegyetem  
Általános Orvostudományi Kar  
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

2008

Programvezető: Prof. Dr. Melegh Béla

Témavezető: Prof. Dr. Kosztolányi György, akadémikus

## 1. Bevezetés

Az elmúlt évtizedekben a technikai előrehaladásnak és az új kezelési lehetőségeknek köszönhetően egyre nagyobb arányban maradnak életben az igen alacsony születési súllyal (very low birth weight, VLBW) született újszülöttek és így egyre több olyan betegséggel találkozunk, melyek lassabban alakulnak ki és akut megbetegedésen kívül a későbbi életvitelt, életminőséget is befolyásolhatják. Ilyen betegség a koraszülöttek csontmineralizációját érintő „csontanyagcsere-betegség”, melynek nem egységes a definíciója. Mivel különböző patofiziológiai eltérések okozhatják ugyanazt a klinikai képet és nincsenek a csont ásványianyag tartalmát és a csont minőségét jellemző, koraszülöttekre vonatkozó referenciaértékek, a kórkép ajánlott definíciója az úgynevezett „nem specifikus koraszülöttkori csontanyagcsere-betegség” vagy „metabolikus csontbetegség” (metabolic bone disease of prematurity, bone disease of preterm birth). Ide sorolható az oszteomalácia (az ásványi anyagok beépülése a szerves csontmatrixba zavart szenved), az oszteopénia (a csont ásványianyag tartalma csökkent, de nincsenek rachitiszre utaló jelek, radiológiai eltérések) és az oszteoporózis (koraszülöttek esetén: minor trauma hatására bekövetkezett csonttörések). A koraszülöttek metabolikus csontbetegségének incidenciája VLBW koraszülöttek esetén kb. 30%-ra tehető. A csontok ásványianyag tartalmának kialakulásában hormonális faktorok [parathormon (PTH), kalcitonin, D-vitamin, növekedési hormon (GH), kortizol] játszanak fontos szerepet. Ezen kívül hozzájárulhatnak az inadequat kalcium (Ca)-, foszfor (P)-bevitel, a koraszülöttség kapcsán kialakuló egyéb betegségek és szövödmények [pl. krónikus lélegeztetés, bronchopulmonális diszplázia (BPD)], valamint az alkalmazott kezelések mellékhatásai (kortikoszteroidok, diuretikumok, metilxanthinok, parenterális táplálás) a metabolikus csontbetegség kifejlődéséhez. A csökkent testmozgásnak, a csontokat érő terhelés „elégtelenségének”, az extrauterin immobilitásnak egyre nagyobb jelentőséget tulajdonítanak. Az anya testméretei és életmódja is hatással vannak az újszülött csonttömegére. Így például pozitív kapcsolatban áll az újszülött csont ásványianyag-tartalma a születési súllyal, a placenta súlyával és negatív kapcsolatban az anyai dohányzással és az anyai fokozott fizikai aktivitásával. A közelmúltban beszámoltak a paritás, valamint az újszülött nemének jelentőségéről is. Tokolízisként alkalmazott magnézium szulfát infúzió a főtusz csontjainak demineralizációjához, törésekhez is vezethet. Felnőttekben számos iker- és családtanulmányban mutattak rá arra, hogy a felnőttkori csúcscsonttömeg alakulását jelentős mértékben genetikai tényezők határozzák meg, akár 50%-ban is felelősek lehetnek. Nagy nemzetközi tanulmányok vizsgálták a D-vitamin receptor (VDR), az ösztrogén receptor (ER), valamint a kollagén Ia1 receptor (COLIA1) genetikai polimorfizmusainak szerepét a

felnttkori oszteoporózis kialakulásában. Kimutatták, hogy ezek a polimorfizmusok okozhatják a gének megváltozott expresszióját és vezethetnek ezáltal a csont strukturális eltéréséhez, csökkent mineralizációjához. Genetikai receptorok között feltételezett interakciók szerepét is vizsgálták. Csak igen kevés adat áll rendelkezésre arra vonatkozóan, hogy a genetikai polimorfizmusok milyen hatással vannak a koraszülöttekben észlelhető, a csontmineralizációt érintő betegségekre.

De nem csak az igen alacsony súllyal született koraszülöttek lehetnek érintettek. Akár érett újszülötteknél is számolni kell a metabolikus csontbetegséggel, elsősorban akkor, ha huzamosabb ideig olyan gyógyszeres kezelésben részesülnek, ami befolyásolja a csontturnovert. Így például beszámoltak arról, hogy a chylothorax kezelésére újabban alkalmazott szomatosztatin analóg készítmény (octreotide, Sandostatin) hosszabb távú alkalmazása kihatással van Ca anyagcserére, valamint a csontmetabolizmusra.

## **2. Célkitűzések**

A csont mineralizációját érintő betegség koraszülöttekben gyakori jelenség. Vannak adatok arra vonatkozóan, hogy súlyos vagy krónikus betegség nélkül is lelassulhat a csontosodási folyamat és beszámoltak arról is, hogy nincs különbség az oszteopénia kialakulásában BPD-ben szenvedő és nem szenvedő koraszülöttek között. A kialakuló csontmineralizációs zavar későbbiekben az életvitelt, az életminőségét jelentősen befolyásolhatja, ami miatt a patomechanizmus pontos megismerése, korai diagnózisa, kezelése rendkívül fontos.

### ***Kutatásom célja:***

- 1. Annak a kérdésnek a megválaszolása, hogy koraszülöttekben az irodalmi adatokhoz hasonló arányban található-e metabolikus csontbetegség, és megbízható-e a biokémiai paramétereken, valamint radiológiailag észlelt eltéréseken alapuló diagnózis?*
- 2. A különböző magzati és anyai kockázati faktorok, mint a gesztációs kor, a születési súly és hossz, a nem, a CRIB (Clinical Risk Index for Babies) és Apgar score, az anyai paritás és a hoszpitalizációs időtartam, milyen szerepet játszanak a betegség kialakulásában?*
- 3. Mivel felnöttekben bizonyítottnak látszik, hogy a genetikai faktorok igen jelentős szerepet játszanak az oszteoporózis kialakulásában céloim az volt, hogy kiderítsem, található-e összefüggés a koraszülöttek metabolikus csontbetegsége és a genetikai polimorfizmusok között?*
- 4. A fentiek alapján azonosítható-e az oszteopénia szempontjából veszélyeztetett populáció, és ha igen, milyen preventív lehetőségek vannak arra, hogy megakadályozzuk a súlyos*

metabolikus csontbetegség kialakulását, illetve hogyan *kezeljük sikeresen* a manifesztálódott betegséget?

5. Nemcsak az igen alacsony születési súllyal született koraszülötteknél léphet fel metabolikus csontbetegség. Érett vagy terminushoz közeli újszülötteknél leginkább súlyos általános állapot mellett alkalmazott gyógyszeres kezelés mellékhatásaként lehet számítani fokozott csontturnoverre. Ismert, hogy a szomatosztatin a növekedési hormon gátlásán keresztül fejti ki hatását és hosszú távú alkalmazása befolyásolja a csontmetabolizmust. Arra kerestem a választ, hogy a chylothorax kezelésére indított *hosszú hatású szomatosztatin analóg készítmény rövid ideig tartó alkalmazása vezet-e a biokémiai csontparaméterek változásához?*

### 3. Beteganyag

A vizsgálatban 104, a PTE OEKK Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján 2002. január 1. és 2005. június 30. között született koraszülött (54 fiú, 50 lány) vett részt, akiknek születési súlya 1500 g alatt, gesztációs kora  $\leq 31$  hét volt. A koraszülöttek átlagos gesztációs kora  $28,5 \pm 0,4$  hét, születési súlyuk  $1080 \pm 38$  g volt. A gesztációs kort az utolsó menstruáció vagy az ultrahang lelet alapján határoztuk meg és az új Ballard score segítségével ellenőriztük[3]. A koraszülötteket biokémiai és radiológiai eredményei alapján két csoportba osztottuk: VLBW koraszülöttek csontmineralizációt érintő csontbetegséggel (beteg csoport) és csontanyagcsere-betegségben nem szenvedő koraszülöttek (kontroll csoport). A vizsgálatunkat a Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi Kar Regionális Kutatási Etikai Bizottsága engedélyezte. A szülők írásbeli hozzájárulásukat adták.

Összehasonlítottuk a gépi lélegeztetés, az O<sub>2</sub> szupplementáció időtartamát a két csoport között és nem találtunk szignifikáns eltérést (átlagos lélegeztetési napok száma: 4,5 nap vs 4 nap, O<sub>2</sub> terápia: 13 vs 11 nap). Súlyos BPD miatt összesen 9 koraszülött részesült szteroid adásában (0,05-0,2 mg/kg/nap Oradexon por 10 napon keresztül), 5 koraszülött a beteg csoportból, 4 koraszülött a kontroll csoportból. Az enterális táplálást átlagosan a 2. életnapon kezdtük vagy koraszülött tápszerrel (75 mg kalcium, 48 mg foszfor, 8 mg magnézium 100 ml-ként) vagy szupplementált anyatejjel (81 mg kalcium, 49 mg foszfor, 5,5 mg magnézium per 100 ml). Átlagban 15 napig szorultak kiegészítő infúziós terápiára (16 vs 14 nap). Az enterális táplálás átlagban a 16. életnapon érte el a 150 ml/kg/napot. A 7. életnaptól minden újszülött 400 IU/nap D-vitamin (kolekalciferol) adásában részesült.

## 4. Módszer

### 4.1. Biokémiai paraméterek meghatározása

Valamennyi esetben egy-, kettő-, három-, hat- és tizenkét hónaposan, 92 gyermeknél kétévesen és 68 gyermeknél három évesen is végeztük a következő vizsgálatokat: Szérum kalcium, foszfor, alkalikus foszfatáz, magnézium, oszteokalcin, parathormon meghatározás történt standard körülmények között. A vizelettel ürülő kalcium, valamint piridinolin crosslink értékeket kreatininre korrigálva (nmol/mmol kreatinin) határoztunk meg. Metabolikus csontbetegség esetén a koraszülötteknél 2 és 6 hónapos korban röntgen felvételt (mellkas és csukló, valamint a hozzátartozó hosszú csöves csontok) készítettünk, melynek értékelése a Koo score alapján történt.

Chylothorax miatt szomatosztatin analóggal kezelt betegeinknél kezelés előtt és után ellenőriztük a csontmetabolizmust jellemző biokémiai paramétereket. A szérumban a Ca, P, alkalikus foszfatáz (ALP), oszteokalcin (OC) és PTH szinteket, valamint a vizelettel ürülő Ca értékeket határoztuk meg.

### 4.2. Genetikai polimorfizmusok vizsgálata

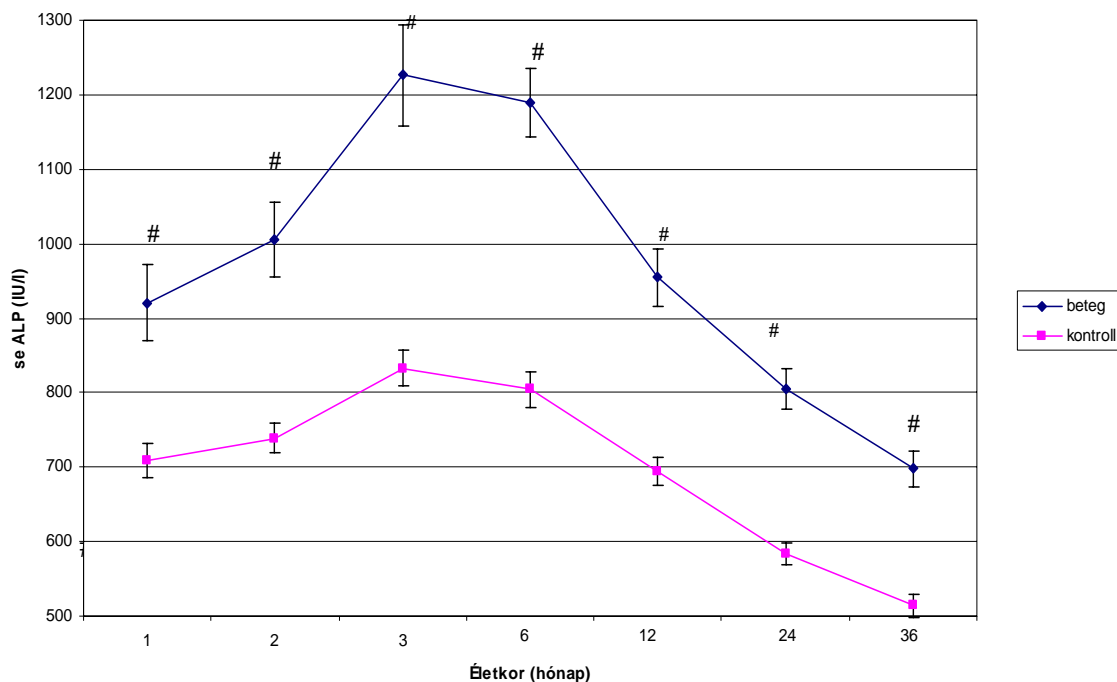
*VDR*, *ER*, *COLIA 1* gének polimorfizmusainak analizéséhez EDTA-s vérből DNS-t izoláltunk. A *VDR* gén polimorfizmusának azonosításához PCR (polimeráz-lánreakció)- RFLP (restrikciós fragment length polimorfizmus) módszert alkalmaztunk. A 9-es exonon található 740 bázispár (bp) hosszú részt amplifikáltuk, amely tartalmaz egy állandó és egy polimorf TaqI endonukleáz szakaszt. Ezzel az endonukleázzal történő emésztést követően agarose gélen történt a minta futtatása. A következő RFLP-mintázatokot identifikáltuk: TT = homozigóta, TaqI restrikciós fragmentumok nincsenek jelen; Tt = heterozigóta; tt = homozigóta, mindkét allélon a polimorf szakaszok jelen vannak. Az *ER* dinukleotid repeat polimorfizmus azonosítása szintén PCR módszerrel történt. Oligonukleotid primerek felhasználásával egy polimorf (TA)<sub>n</sub> ismétlődési szakaszt amplifikáltunk az *ER* génen. A (TA)<sub>n</sub> repeatek számának meghatározásához a PCR termékek hosszúságát kontroll DNS létrához hasonlítottuk. *COLIA1* gén genotípusát Ball endonukleázzal történő emésztést követően határoztuk meg. Az alábbi genotípusokat találtuk: CC = homozigóta, restrikciós szakasz nincsen jelen, egy 255 bp hosszú fragmentet kaptunk; Cc = heterozigóta, egy 255 bp, egy 236 bp és egy 19 bp hosszú fragment; cc = homozigóta, 2 fragment, 236 és 19 bp hosszúak.

## 5. Eredmények

### 5.1. Biokémiai paraméterek változása a metabolikus csontbetegség függvényében

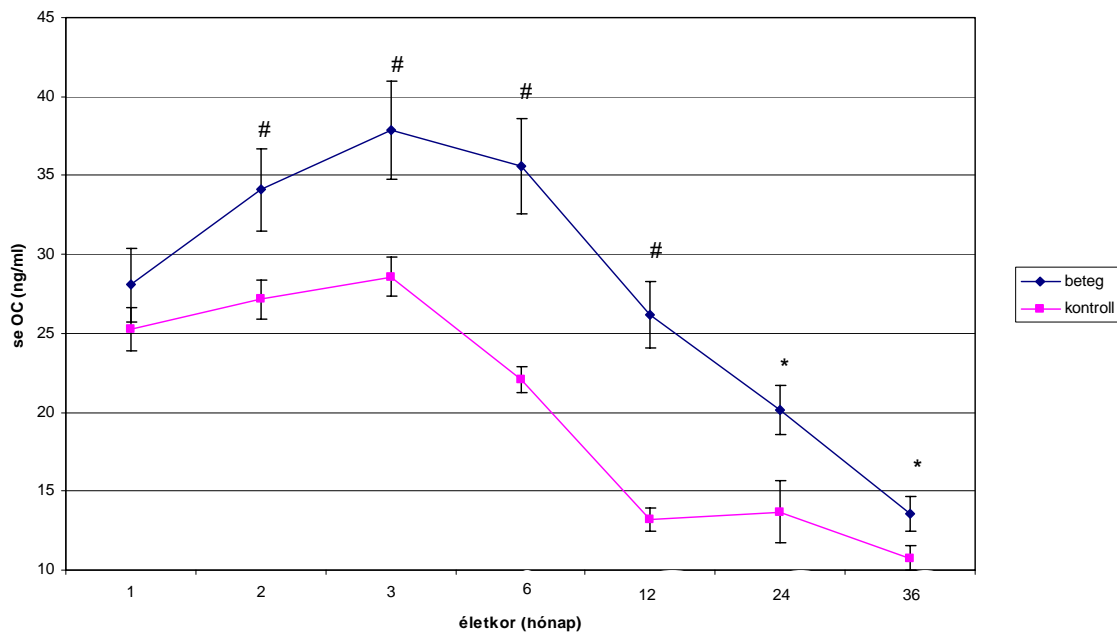
Csontmineralizációt érintő csontbetegséget magas alkalikus foszfatáz, oszteokalcin, parathormon, vizeletben ürülő piridinolin crosslink, valamint vizelet kalcium értékek alapján 30 koraszülöttben (28,8%) diagnosztizáltunk. Radiológiai elváltozásokat a legtöbb esetben észleltünk, kivétel négy koraszülött (két ikerpár) volt, akiket a rendkívül magas biokémiai paraméterek alapján az érintettek csoportjába soroltunk. A radiológiai elváltozásokat rendszerint a 2. élethónapban észleltük, a 6 hónapos életkorban elvégzett kontroll vizsgálat minden esetben javulást mutatott. A radiológiai eltérések súlyosságukat tekintve enyhék voltak, a Koo score 1-, 2-es súlyossági fokozatnak feleltek meg. Patológiás törés nem fordult elő.

Az *alkalikus foszfatáz* értékek fél éves kortól csökkentek, de egészen a 3. életévig szignifikánsan magasabbak maradtak a csontbetegségben szenvedő csoportban ( $p < 0,001$ ) (1. ábra).



**1.ábra:** Szérum alkalikus foszfatáz (se ALP) változásai az első 36 hónapban.

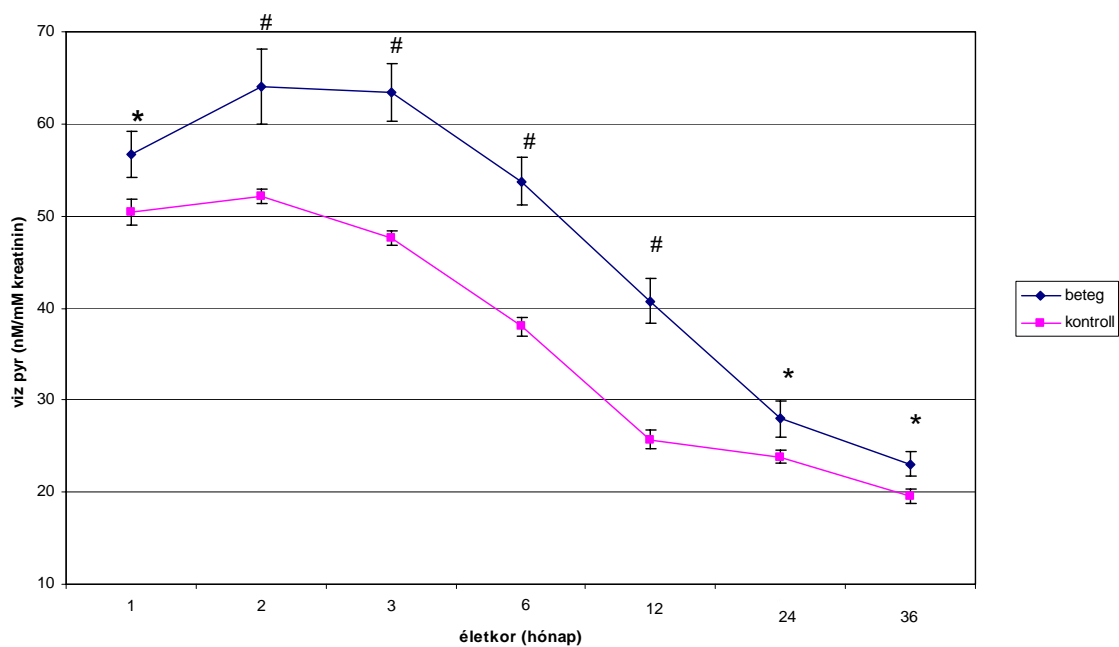
Az *oszteokalcin* értékek hasonlóan alakultak, a 2. élethónaptól szignifikánsan magasabbak voltak az érintett csoportban (2. ábra).



#:  $p < 0,01$ ; \*:  $p < 0,05$ ;

**2.ábra:** Szérum oszteokalcin (se OC) változásai az első 36 hónapban

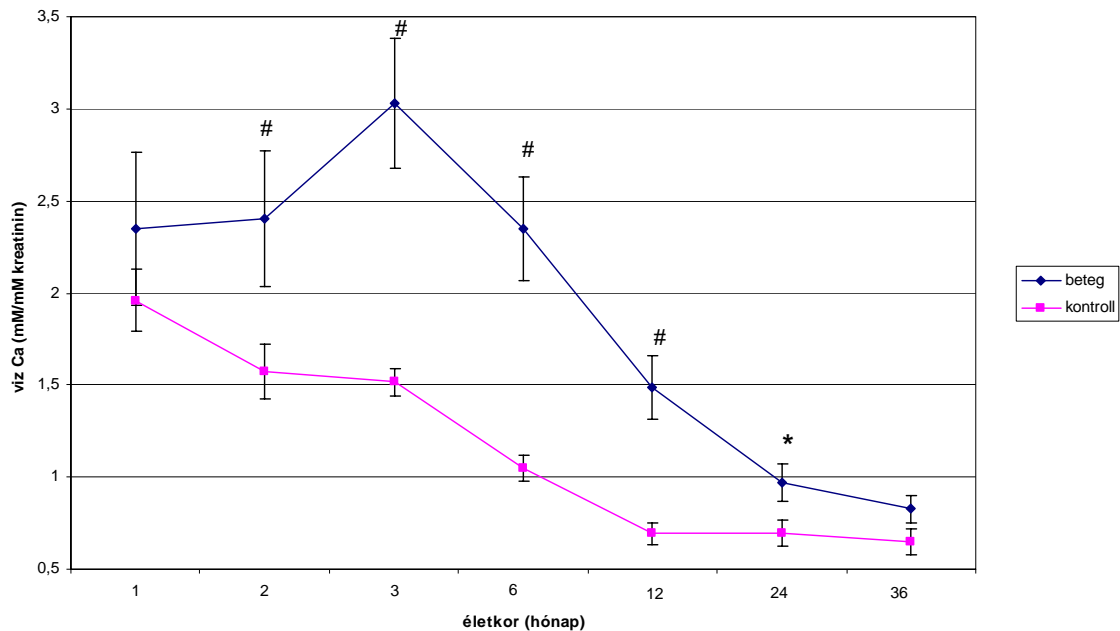
A vizelettel ürülő *piridinolin* értékek, melyek a csontrezorpciót tükrözik, az első 3 hónapban emelkedtek, majd csökkentek, de a két csoport közötti különbség végig szignifikáns volt (3. ábra).



#:  $p < 0,01$ ; \*:  $p < 0,05$ ;

**3.ábra:** Vizelet piridinolin crosslink (viz pyr)/ mmol kreatinin változásai az első 36 hónapban

A csontbetegségben szenvedő koraszülöttek 2 hónapos kortól egészen a 24. élethónapig szignifikánsan magasabb arányban ürítettek *kalciumot a vizelettel* (mmol/mmol kreatinin-ben kifejezve), mint az egészséges gyerekek (4. ábra).



#:  $p < 0,01$ ; \*:  $p < 0,05$ ;

**4.ábra:** Vizelet kalcium (viz Ca)/ mmol kreatinin változásai az első 36 hónapban

A *parathormon* szintek szintén a 2. hónaptól voltak magasabbak. A szérumban kalcium és magnézium tekintetében nem volt különbség a két csoport között.

Fél-, két- és három éves korban találtunk szignifikáns *testsúly*-, két- és három éves korban jelentősebb, de nem szignifikáns *testhosszbeli* eltérést a két csoport gyermekei között (5. ábra). Azok a gyermekek, akik csontanyagcsere-betegségben nem szenvedtek, nehezebbek (6 hónaposan:  $5,63 \pm 0,2$  kg vs.  $6,04 \pm 0,1$  kg,  $p < 0,05$ ; 24 hónaposan:  $10,55 \pm 0,2$  kg vs.  $11,22 \pm 0,15$  kg,  $p < 0,01$ ; 36 hónaposan:  $12,11 \pm 0,25$  kg vs.  $13,40 \pm 0,20$  kg,  $p < 0,001$ ) és magasabbak (24 hónaposan:  $83,6 \pm 0,8$  cm vs.  $85,3 \pm 0,7$  cm,  $p = 0,07$ ; 36 hónaposan:  $93,8 \pm 0,9$  cm vs.  $97,1 \pm 2$  cm,  $p = 0,17$ ) is voltak.

Egy-, két- és három éves korban meghatároztuk a *szérumban ösztadiol szintet*. Azt találtuk, hogy a beteg csoportban szignifikánsan alacsonyabb volt az ösztadiol szint egy és két éves korban.



## 5.2. Klinikai és genetikai kockázati tényezők azonosítása

### Klinikai kockázati faktorok:

Megvizsgáltuk a gesztációs kor, a születési súly és hossz, a nem, a CRIB score, az 1 és 5 perces Apgar pont, a paritás, valamint az ápolási időtartam befolyását a betegség kialakulására. Egyváltozós statisztikai vizsgálattal azt találtuk, hogy a férfi nem ( $p<0,001$ ), a magas CRIB score ( $p<0,05$ ), az ápolási időtartam ( $p=0,05$ ) és a terhességek száma ( $p<0,05$ ) összefüggésbe hozható a csontbetegség kialakulásával (1. táblázat).

**1. táblázat:** A vizsgálatban résztvevő csontbetegségben szenvedő és kontroll VLBW újszülöttek klinikai jellemzői

	<i>Csontbetegségben szenvedő újszülöttek (n=30)</i>	<i>kontroll csoport (n=74)</i>
Gesztációs kor (hét)	28,4±0,4	28,6±0,3
Születési súly (g)	1058±51	1102±26
Születési hossz (cm)	36,1±0,6	36,7±0,3
Nem (férfi)	24 (80%)	30 (40%) <sup>†</sup>
CRIB score	7,2±0,5	5,7±0,3*
1 perces Apgar score	6,9±0,3	7,5±0,2
5 perces Apgar score	8,5±0,2	8,8±0,1
Terhességek száma	4,2±0,4	3,3±0,2*
Ápolási napok száma	74±7	63±2

*Az értékek átlagértékek ± SEM vagy százalék. \* $p<0,05$ ; <sup>†</sup> $p<0,001$ ;*

### Genetikai faktorok:

Az *ESRI* gén első exonján található (TA)<sub>n</sub> dinukleotid repeat polimorfizmus, a *VDR* gén exonján elhelyezkedő TaqI polimorfizmus, valamint a *COL1A1* gén 1. intronján helyet foglaló G-T polimorfizmus genetikai eloszlása a 2. táblázatban látható.

**2. táblázat:** Genotípusos eloszlás csontbetegségben szenvedő és kontroll VLBW újszülöttekben (n=104)

<b>Gén</b>	<b>Polimorfizmus</b>	<b>Csontbetegségben szenvedő újszülöttek</b>	<b>kontroll csoport</b>
<b>VDR</b>	Tt	14 (47%)	46 (64%)
	TT	11 (36%)	23 (31%)
	tt	5 (17%)	5 (7%)
<b>COL1A1</b>	Cc	15 (50%)	18 (25%)
	CC	13 (43%)	51 (68%)
	cc	2 (7%)	5 (7%)
<b>ESR1</b>	TA repeatek száma : <19	20 (67%)	17 (23%)*
	TA repeatek száma: >18	10 (33%)	57 (77%) <sup>†</sup>

\* $p < 0,05$ , <sup>†</sup> $p < 0,01$ ;

Külön-külön elemezve a D-vitamin és kollagén I $\alpha$ 1 receptorok polimorfizmusait nem találtunk szignifikáns különbséget (2. táblázat). Az ESR (TA)<sub>n</sub> repeat polimorfizmusa és a csontanyagcsere-betegségek között viszont pozitív korrelációt fedeztünk fel. A (TA)<sub>n</sub> alléleket 3 csoportra osztottuk: (1) a HoM csoportba a magas számú (TA)<sub>n</sub> repeattal rendelkező [(TA)<sub>n</sub>>18] homozigóta alléleket; (2) a HeMA csoportba egy magas és egy alacsony (TA)<sub>n</sub> repeattal rendelkező heterozigótákat; (3) a HoA csoportba viszont alacsony számú (TA)<sub>n</sub> repeatekkel [(TA)<sub>n</sub><19] rendelkező homozigóta allél variánsokat soroltuk. A 3-as csoportot alkotó koraszülöttek szignifikánsan gyakrabban szenvedtek csontmineralizációt érintő csontbetegségben ( $p < 0,05$ ). Ezzel ellentétben azok az újszülöttek, akik magas számú (TA)<sub>n</sub> repeattal rendelkeztek mindkét allélban védettek voltak a csontbetegség kialakulásával szemben ( $p < 0,01$ ) (2. táblázat).

Multivariáns analízisben a klinikai és genetikai faktorokat összevetve azt találtuk, hogy a férfi nem és a genetikai faktorok közül az ESR1 polimorfizmusának HoA allélja bizonyult rizikó faktornak, a COLIA1 CC allélja védő faktornak imponált (3. táblázat).

**3. táblázat:** *Klinikai és genetikai tényezők kapcsolata a csontbetegség kialakulásával VLBW újszülöttek között többváltozós logisztikus regressziós elemzés alapján*

<i>Rizikó tényezők</i>	<i>EH</i>	<i>95% MT</i>
Születési súly (g)	1,003	0,99-1,00
Születési hossz (cm)	0,670	0,45-1,00
Nem (lány/fiú)	0,087	0,40-0,002 <sup>†</sup>
Gesztációs kor (hét)	1,044	0,71-1,52
CRIB score	1,179	0,89-1,56
Ápolás időtartama (nap)	1,019	0,98-1,06
VDR polimorfizmus (TT/Tt)	0,931	0,22-3,99
VDR polimorfizmus (tt/Tt)	1,029	0,18-5,84
COLIA1 polimorfizmus (CC/Cc)	0,24	0,06-0,93*
COLIA1 polimorfizmus (cc/Cc)	3,22	0,26-39,28
ER polimorfizmus (HeMA/HoM)	10,027	0,54-187,36
ER polimorfizmus (HoA/HoM)	21,069	4,25-104,24 <sup>†</sup>

\* $p < 0,05$ ; <sup>†</sup> $p < 0,01$ ;

Logisztikus regressziós elemzést alkalmaztunk annak vizsgálatára, hogy léteznek-e az oszteoporózis kialakulása szempontjából jelentőséggel bíró gének közötti interakciók, amelyek hatással vannak a csontbetegség kialakulására. A 4. táblázat tartalmazza a leggyakrabban előforduló kombinációkat.

A VDR és COLIA1 gén polimorfizmusai között szignifikáns kölcsönhatást találtunk. A VDR gén heterozigóta Tt RFLP egyidejű előfordulása a COLIA1 gén CC polimorfizmusával protektív hatással volt a metabolikus csontbetegség kialakulására (EH: 0,31, 95% MT: 0,11–0,85). Ezt a protektív hatást a lépésenként bővített logisztikus regressziós elemzés is alátámasztotta (EH: 0,05, 95% MT: 0,005–0,55;  $p < 0,05$ ) (4. táblázat).

A VDR gén homozigóta tt polimorfizmusának társulása a COLIA1 gén heterozigóta Cc polimorfizmusával kockázati tényezőnek tekinthető (EH: 5,54; 95% MT: 0,96–32,0) (4. táblázat). A csontanyagcsere-betegségben nem szenvedő koraszülötteknél a Tt vagy CC

polimorfizmus gyakrabban társult az *ER* receptor magas számú (TA)<sub>n</sub> repeattal rendelkező homozigóta (HoM allél) változatával ( $p < 0,01$ ). Ezzel szemben a Cc polimorfizmus egyidejű előfordulása alacsony számú (TA)<sub>n</sub> repeatek homozigóta változatával (HoA allélek) korrelált a csontbetegség kialakulásával (EH: 8,61, 95% MT: 2,1-35,3;  $p < 0,01$ ) (4. táblázat). Statisztikailag szignifikáns hatású a *VDR* gén Tt polimorfizmus társulása az *ER* gén HoA polimorfizmusával, mely független kockázati faktornak (EH: 17,52, 95% MT: 1,19-5-257,74) bizonyult (4. táblázat).

Lépésenként bővített logisztikus regressziós elemzésben a klinikai és genetikai kockázati faktorok befolyását vizsgálva azt találtuk, hogy a nem, az ápolási időtartam, az *ER* gén (TA)<sub>n</sub> repeat polimorfizmusa, a *VDR* és *COLIA1*, valamint a *VDR* és *ER* egyes genotípusai közötti interakciók összefüggésbe hozhatók a koraszülöttekben észlelt csontbetegségek kialakulásával (4. táblázat).

**4. táblázat.** Lépésenként bővített logisztikus regressziós elemzés segítségével meghatározott VLBW újszülöttek közti csontbetegség kialakulásával kapcsolatos genetikai és klinikai tényezők

<i>Rizikó tényezők</i>	<i>EH</i>	<i>95% MT</i>
Nem (lány/fiú)	0,11	0,03-0,41 <sup>†</sup>
Ápolási időtartam (nap)	1,04	1,01–1,06 <sup>†</sup>
HoM allél	0,20	0,05-0,82 <sup>*</sup>
Tt-CC interakció	0,05	0,005-0,55 <sup>*</sup>
Tt-HoA interakció	17,51	1,19-257,74 <sup>*</sup>

\* $p < 0,05$ ; <sup>†</sup> $p < 0,01$ ;

### **5.3. A csontmetabolizmust jellemző biokémiai paraméterek alakulása a szomatosztatin analóggal történő kezelés során**

Érett újszülöttünkénél a szomatosztatin analóggal történő kezelés alatt a szérum és vizelet Ca, szérum P, ALP, PTH értékek kóros csontmetabolizmusra nem utaltak. Koraszülött betegünkénél mérsékelt ALP, OC emelkedést, fokozott vizelet Ca ürítést észleltünk. A PTH újszülöttekre jellemző fiziológiás tartományban maradt.

## 6. Megbeszélés

### 6.1. VLBW koraszülöttek metabolikus csontbetegsége

Az elmúlt évtizedek tudományos fejlődésének köszönhetően a VLBW koraszülöttek életkilátásai jelentősen javultak. Egyre fontosabb, hogy ezeknek az újszülötteknek az életet talán közvetlenül nem veszélyeztető, de az életminőséget jelentősen befolyásoló betegségeit is vizsgáljuk. Ide sorolhatóak a csontmineralizációt befolyásoló csontbetegségek. Kialakulásukhoz vezető kockázati faktorok azonosítása rendkívül fontos, mert az oszteoporózis a későbbi életkorban jelentős népegészségügyi problémát jelent. A patomechanizmus jobb megismerésével, a kockázati tényezők azonosításával és az abból adódó megfelelő kezelésekkel csökkenteni tudjuk a patológiás csonttörések számát és a későbbi szövődményeket, mint például a hosszirányú növekedés lassulása, mely alacsonyabb felnőttkori testmagasságot eredményezhet.

Egyszáznegy koraszülött közül 30 újszülöttben (28,8%) diagnosztizáltam metabolikus csontbetegséget. Ez az előfordulási arány megegyezik a nemzetközi irodalomban található adatokkal.

Vizsgálatom elsődleges célja volt kideríteni, hogy genetikai polimorfizmusok összefüggésbe hozhatók-e a metabolikus csontbetegséggel. Eredményeim azt sugallják, hogy az *ESR1* gén  $(TA)_n$  polimorfizmusa, valamint a *VDR* és *COL1A1* gén és a *VDR* és *ESR1* gén közötti kölcsönhatás befolyásolja a csontbetegség kialakulását koraszülöttekben. Azok a koraszülöttek, akik mindkét allélban alacsonyabb számú  $(TA)_n$  repeatel rendelkeznek, hajlamosabbak az oszteopénia, oszteoporózis kialakulására és magasabb arányban ürítenek piridinolint a vizelettel, mint más genotípussal rendelkező koraszülöttek. A lépésenként bővített logisztikai regressziós elemzés segítségével kiderítettük, hogy a mindkét allélban magasabb számú  $(TA)_n$  repeatel rendelkező egyének egyértelműen védettek az oszteopénia/oszteoporózis kialakulása szempontjából.

A molekuláris mechanizmus még nem tisztázott. A  $(TA)_n$  polimorfizmus vagy a transzkripció szabályozásán keresztül befolyásolhatja a génexpressziót, vagy kapcsolatban állhat más, az exonon található *ESR 1* fehérjét szabályozó polimorfizmusokkal. Legalább 3 különböző promotor található az *ESR1* génen. A különböző hosszúságú  $(TA)_n$  dinukleotid régiók a promotor A és B között helyezkednek el, feltételezik, hogy a repeat hosszúsága befolyásolja a promotor kiválasztását. Az ER- $\alpha$  génen néhány intron polimorfizmus (PvuII és XbaI) is található, mely LD-ban áll a TA-repeat, vagy más a promotor vagy kódoló régióban található polimorfizmusokkal. Valószínűsítik, hogy az *ESR1* gén polimorfizmusai

megváltoztatják a keringő ligand-ösztrogének iránti fogékonyságot, ami genotípus-függő csonttömeg eltérésekhez vezethet.

Az ösztrogén receptor polimorfizmuson kívül statisztikailag szignifikáns kölcsönhatást találtunk az oszteoporózis több ún. kandidátus génje, a *VDR* és *COL1A1*, valamint a *VDR* és *ESR1* gén között. Az ilyen interakciókról koraszülöttekben még nem számoltak be. Több tanulmány foglalkozott az egyes oszteoporózis kialakulása szempontjából jelentőséggel bíró gének között észlelt kapcsolatokkal. Azt találták, hogy a *VDR* és *COL1A1* gén, valamint a *VDR* és *ESR1* gén közötti interakciók legalább részben felelősek a patológiás törések kialakulásáért. Eredményeink arra mutatnak, hogy szignifikáns kapcsolat van a *VDR* és *COL1A1* genotípus között. A *COL1A1* gén CC genotípusának (timin allél nincs jelen) egyidejű előfordulása a *VDR* gén Tt genotípusával (heterozigóta) védi az újszülötteket a csontbetegség kialakulása ellen. A *VDR* egy szteroid transzkriptációs faktor és szabályozza a *COL1A1* gén expresszióját. Elképzelhető, hogy a *VDR* gén genetikai variánsai befolyásolják a *COL1A1* gén polimorfizmusainak a csontanyagcserére gyakorolt hatásait. Az *ESR1* gén HoA (mindkét allélben alacsonyabb számú repeatek vannak jelen) polimorfizmusának társulása a *VDR* gén Tt genotípusával (heterozigóta) egyértelmű rizikófaktor a csontbetegség kialakulása szempontjából.

A *klinikai rizikó* faktorok közül a lépésenként bővített logisztikai regressziós elemzés arra mutatott, hogy a metabolikus csontbetegség a fiú nemen kívül összefüggésbe hozható az ápolás időtartamával is. Ennek a magyarázata kézenfekvőnek tűnik. Hosszabb hospitalizáció elhúzódó gyógyszeres kezeléseket (kortikoszteroidok, diuretikumok, metilxanthinok, parenterális táplálás), súlyosabb betegségeket (hosszabb ideig tartó lélegeztetés, BPD, NEC) jelent, melyek fokozottabb csont-turnover mellett kóros csontfelépülés/ csontlebontás arányhoz vezetnek.

Vizsgálatunkban a *fiúk* szignifikánsan gyakrabban voltak érintettek mint a lányok. A metabolikus csontbetegség kialakulásánál nagy jelentőséget tulajdonítanak annak a tényezőnek, hogy megszületésével az újszülött ösztrogén szintje hirtelen lezuhan, mert az anyai ösztrogénekkel történő ellátottság megszűnik. Kimutatták, hogy VLBW koraszülött fiúkban az ösztrogén szint születést követően alacsonyabb, mint lányokban. Ez irányban végzett saját vizsgálataink azt mutatták, hogy fél-, 1- és 2 éves korban a fiúk szérum ösztradiol szintje szignifikánsan alacsonyabb, mint a lányoké. Elképzelhető, hogy az alacsonyabb ösztrogén szint predisponálja a koraszülött fiúkat a csontanyagcsere-betegség kialakulására. Felnőtt populációban végzett vizsgálatok fényt derítettek arra, hogy az eltérő *ESR1* allél variánsokkal rendelkező nők szervezete eltérő módon reagált az oszteoporózis

esetén indított ösztrogénnel történő szubsztitúcióra. Egyéni beállítások, terápiás változások voltak szükségesek ahhoz, hogy ugyanazt a kívánt eredményt ériék el. Feltételezhető, hogy fokozottan hátrányos helyzetben vannak azok a fiú újszülöttek, akik alacsony számú (TA)<sub>n</sub> repeatekkel rendelkeznek.

Vizsgálatom eredményei azt a feltevést támasztják alá, hogy koraszülöttekben a csontmineralizációt érintő csontbetegségek kialakulásában a klinikai faktorok mellett (fiú nem, ápolási időtartam) legalább részben genetikai tényezőkkel is számolni kell, melyek fokozottabb csont-turnover mellett kóros csontfelépülés, csontlebontás arányhoz vezetnek.

Az elsődleges prevenció és az adekvát kezelés a csonttörések kialakulásának megakadályozása mellett a későbbi szövődmények kialakulását is csökkenthetik, így a hosszirányú növekedés lelassulását és az abból eredő alacsony felnőttkori testmagasságot. Továbbá megakadályozhatják a felnőttkori súlyos oszteoporózis kialakulását.

## **6.2. Chylothorax kezelésére alkalmazott hosszú hatású szomatosztatin analóg hatása a csontmetabolizmusra**

Főleg súlyos általános állapot mellett alkalmazott gyógyszeres kezelés mellékhatásaként nem csak koraszülötteknél, hanem érett újszülötteknél is lehet számítani fokozott csont-turnoverre, akár oszteopénia, oszteoporózis kialakulására. Neonatológiai gyakorlatunkban alkalmunk volt két újszülött esetében megvizsgálni a chylothorax kezelésére alkalmazott hosszú hatású szomatosztatin készítmény hatását a csontmetabolizmusra. Kíváncsiak voltunk, hogy a készítmény egy hetes alkalmazása kihatással van-e a csontmetabolizmusra. Az érett újszülöttben nem találtunk semmilyen kóros eltérést. A 32 hetes koraszülött biokémiai paraméterei (magasabb szérum ALP, OC, vizelet Ca ürítés) mérsékelten fokozott csontmetabolizmust igazoltak, ami a koraszülöttekre jellemző és nem valószínű, hogy a szomatosztatin analóggal történt kezeléssel van összefüggésben. Eredményeink azt mutatták, hogy a chylothorax kezelésére alkalmazott octreotide készítmény egy hetes alkalmazása nincs jelentős kihatással a csontmetabolizmusra. Feltételezzük, hogy ilyen rövid idő alatt a szomatosztatin analóg hatásai a csontmetabolizmusra még nem érvényesülnek.

## 7. Következtetések, az eredmények gyakorlati hasznosítása

Munkám során nyert adatok alapján az alábbi következtetésekre jutottam:

1. VLBW koraszülötteink körében, a nemzetközi irodalomban megjelent adatokkal összehangban, 28,8%-ban fordult elő metabolikus csontbetegség. A diagnózis a csontképzés és a csontreszorpció markerek egyidejű meghatározása alapján biztonságosan felállítható, radiológiai vizsgálatok elvégzése nem ad többletinformációt. Már egy hónapos korban észleltünk szignifikáns különbséget a biokémiai paraméterek között, ami megfelel annak a megfigyelésnek, hogy a metabolikus csontbetegség megjelenésével 4-6 hetes korban lehet számolni. Az első vizsgálatok elvégzését emiatt az első élethónap végén ajánlanám. A kezelés hatékonyságának a megítélésére a hetente-kéthetente elvégzett vizelettel ürülő csontreszorpciós markerek meghatározása ajánlott. A csontképzést jellemző paraméterek ellenőrzése eleinte havonta, majd háromhavonta, félévente elegendő. Tapasztalati értékek azt mutatták, hogy megfelelő kezelés mellett 2-3 éves korra normalizálódnak a csontmetabolizmust jellemző paraméterek, szignifikáns különbség a beteg és az egészséges csoport között már nem mutatható ki. Ebben az életkorban egy DEXA-s állapotfelmérés mérlegendő, mivel az erre a korcsoportra jellemző referenciaértékek már rendelkezésre állnak.
2. A klinikai rizikófaktorok közül a fiú nemnek és az ápolási időtartamnak van kiemelkedő jelentősége. Ezenkívül kockázati tényező a multiparitás és a betegség súlyosságát jellemző magas CRIB score. Halmozottan kockázati tényezőkkel sújtott VLBW koraszülöttek preventív kezelését mielőbb el kell kezdeni, a gyógyszeres kezelésüknél kezdettől fogva szem előtt kell tartani a fent említett alapelveket. Fizioterápiájukat minél előbb kezdjük el, akár napi 3 alkalommal. Csontmetabolizmust jellemző paraméterek meghatározása akár már 2 hetes korban adhat információt a metabolikus csontbetegség fennállásáról, súlyosságáról.
3. Munkám eredményei arra mutatnak, hogy a klinikai rizikófaktorokon kívül genetikai tényezők is szerepet játszanak a koraszülöttek csontbetegségének kialakulásában. A genetikailag prediszponált újszülöttek azonosítása különösen fontos, ha a koraszülött a klinikai rizikófaktorok alapján egyébként nem tartozna a veszélyeztetett csoportba. Ilyenkor a genotípus meghatározása felhívhatja a figyelmünket arra, hogy az újszülött csontanyagcsere-betegség szempontjából veszélyeztetett.



4. A rizikócsoport azonosítását követően a megelőzésre kell törekedni, ha a betegség tünetei jelentkeztek a megfelelő kezelést indítani kell, hogy megakadályozzuk súlyos csontbetegség kialakulását.
5. Szem előtt kell tartani, hogy nemcsak az igen alacsony születési súllyal született koraszülötteknél alakulhat ki metabolikus csontbetegség. Új készítmények alkalmazásánál a csontmetabolizmusra gyakorolt hatásukat figyelembe kell venni. Azt tapasztaltuk, hogy a chylothorax kezelésére alkalmazott octreotide készítmény 7 napos alkalmazása nem volt jelentős kihatással a csontmetabolizmusra. Úgy gondoljuk, hogy a csontmetabolizmust befolyásoló gyógyszerek főleg hosszabb távú alkalmazása esetén ajánlott a csont-turnovert jellemző biokémiai paraméterek időszakos ellenőrzése.

## 7. Köszönetnyilvánítás

- Köszönettel tartozom Kosztolányi György Professzor Úrnak, aki tanácsaival, bírálataival, a vizsgálati feltételek biztosításával támogatott.
- Hálával tartozom Ertl Tibor Professzor Úrnak, aki mindig biztatott, mindenben segítségemre volt.
- Köszönöm Melegh Béla professzor Úr támogatását.
- Hálás vagyok barátnőmnek, Dr. Morava Évának, aki lelkesedésével, tudásával beavatott a genetika rejtelseibe.
- Köszönöm Dr. Czakó Mártának, Erdélyi Annának a genotípezálásban nyújtott segítségét és Mártának, hogy megosztotta velem a molekuláris genetikában szerzett tudását.
- Dr. Sándor Jánosnak köszönöm a statisztikai analízisben nyújtott segítségét.
- Köszönöm kolléganőimnek, Dr. Vida Gabriellának, Dr. Gyarmati Juditnak, Dr. Sárkány Ilonának, Dr. Flach Edinának, hogy őszintén segítettek utamon.
- Hálával tartozom szüleimnek, akik mindig mellettem álltak.
- Köszönöm gyermekeim, Nicholas, Sebastian és Katharina, megértő türelmét.

## **8. Publikációs jegyzék**

### **8.1. Témakörben megjelent közlemények jegyzéke**

#### *Angol nyelven*

1. **Funke S.**, Morava É., Czako M., Vida G., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Influence of genetic polymorphisms on bone disease of preterm infants. *Pediatr Res* 60(5):607-612, 2006  
IF: 2,619
2. **Funke S.**, Kellermayer R., Czako M., So J., Kosztolányi G., Ertl T.: Congenital chylothorax in Opitz G/BBB syndrome. *Am J Med Genet A* 15;140A(10):1119- 1121, 2006  
IF: 2,063

#### *Magyar nyelven*

1. **Funke S.**, Morava É., Czako M., Vida G., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Koraszülöttek csontanyagcsere-betegsége és genetikai polimorfizmusok. *Orv Hetil* 148 (41): 1961-1969, 2007  
IF: -
2. Ertl T., **Funke S.**: Igen kis súlyú újszülöttek osteopeniája. *Gyermekorvos Továbbképzés, Neonatológia*, 7 (1): 29-34, 2008  
IF: -

#### *Angol nyelvű, idézhető absztraktok*

1. **Funke S.**, Morava É., Czako M., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Osteopenia of prematurity (OOP) and genetic polymorphisms: a pilot study. *Eur J Hum Gen* 11 (Suppl 1), 231, 2003  
IF: 3,669
2. **Funke S.**, Morava É., Czako M., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Osteopenia of prematurity (OOP). Is there a genetic background? *J Perinat Med* 31 (Suppl 1), 256, 2003  
IF: 0,790
3. **Funke S.**, Morava É., Czako M., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Association of estrogen receptor dinucleotide repeat polymorphism with osteopenia in very low birth weight (VLBW) infants. *Eur J Hum Gen* 12 (Suppl 1), 275, 2004  
IF: 2,741
4. **Funke S.**, Morava É., Czako M., Ertl T., Szabó I., Kosztolányi Gy.: Is osteopenia of prematurity (OOP) associated with the estrogen receptor dinucleotide repeat polymorphism? *J Matern Fetal Neonatal Med* 16 (Suppl 1), 56, 2004  
IF: -
5. **Funke S.**, Morava É., Czako M., Vida G., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Genetic polymorphisms, clinical risk factors and bone disease of preterms. *Eur J Hum Gen* 14 (Suppl 1), 108, 2006  
IF: 3,697

6. Flach E., **Funke S**, Kellermayer R, Czakó M, So J, Kosztolányi G, Ertl T: Octreotide treatment in congenital chylothorax with Opitz G/BBB syndrome. Paed Perinat Drug Ther 7 (Suppl 1), 142, 2006 IF: -

## **8.2. Témakörben elhangzott előadások jegyzéke**

### *Angol nyelven*

1. **Funke S.**, Morava É., Czakó M., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Osteopenia of prematurity (OOP) and genetic polymorphisms: a pilot study. European Human Genetics Conference, Birmingham, England, 2003.05.03-06.
2. **Funke S.**, Morava É., Czakó M., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Osteopenia of prematurity (OOP). Is there a genetic background? The 6<sup>th</sup> World Congress of Perinatal Medicine, Osaka, Japan, 2003.09.13-16.
3. **Funke S.**, Morava É., Czakó M., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Association of oestrogen receptor dinucleotide repeat polymorphism with osteopenia in very low birth weight (VLBW) infants. European Human Genetics Conference, München, Germany, 2004.06.12-15.
4. **Funke S.**, Morava É., Czakó M., Ertl T., Szabó I., Kosztolányi Gy.: Is osteopenia of prematurity (OOP) associated with the estrogen receptor dinucleotide repeat polymorphism? XIX. European Congress of Perinatal Medicine, Athens, Greece, 2004.10.13-16.
5. **Funke S.**, Morava É., Czakó M., Vida G., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Genetic polymorphisms, clinical risk factors and bone disease of preterms. European Human Genetics Conference, Amsterdam, Netherlands, 2006.05.06-09.
6. Flach E., **Funke S.**, Kellermayer R., Czakó M., So J., Kosztolányi Gy., Ertl T: Octreotide treatment in congenital chylothorax with Opitz G/BBB syndrome. European Society for Developmental Perinatal and Paediatric Pharmacology (ESDP), Stockholm, Sweden, 2006.06.14-17.

### *Magyar nyelven*

1. **Funke S.**, Morava É., Czakó M., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Genetikai polimorfizmusok szerepe osteopenia kialakulásának kockázatára koraszülöttekben. Magyar Perinatológiai Társaság Kongresszusa, Nyíregyháza, 2004.09.02-04.

2. **Funke S.**, Morava É., Czakó M., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Koraszülöttek osteopéniája és genetikai polimorfizmusok. Magyar Humángenetikusok V. Munkakonferenciája, Szeged, 2004.11.11-13.
3. **Funke S.**, Kellermayer R.: Congenitalis chylothorax társulása multiplex fejlődési rendellenességgel. PTE ÁOK OEC Tudományos Szakosztályának Ülése, 2005.11.28.
4. **Funke S.**, Kellermayer R., Flach E., Sárkány I., Vida G., Gyarmati J., Ertl T.: Congenitalis chylothorax kezelésére alkalmazott somatostatin analóggal szerzett tapasztalataink. Magyar Perinatológiai Társaság V. Országos Kongresszusa, Szolnok, 2006.09.08-09.

*Német nyelven*

1. **Funke S.**: Osteopenie bei Frühgeborenen – genetische Polymorphismen und hormonelle Hintergründe. Deutsch-Ungarische Freundschaftsgesellschaft für Geburtshilfe und Frauenheilkunde, XI. Wissenschaftliche Tagung, Budapest, 2005.10.01-03.

**8.3. Nem a témakörben megjelent közlemények jegyzéke**

*Angol nyelven, elsőszerzős*

1. **Funke S.**, Morava É., Czakó M., Cser B., Kosztolányi Gy., Illés T: Dystrophic scoliosis and genetic polymorphisms in patients with neurofibromatosis. Eur J Hum Gen 10 (Suppl 1), 92, 2002 IF: 3,136
2. **Funke S.**, Morava É., Ertl T., Kosztolányi Gy.: Two brothers with different phenotypic expression of the laterality sequence. J Matern Fetal Neonatal Med 11, (Suppl 1), 48, 2002 IF: -
3. **Funke S.**, Flach E., Mánfai Z., Ertl T.: Testicular dysgenesis syndrome: more common after assisted reproduction? Eur J Hum Gen 16 (Suppl 2), 118, 2008 IF: 3,697

*Magyar nyelven, elsőszerzős*

1. **Funke S.**, Rodriguez-Palmero M., Demmelmair H., Ertl T., Szabó I., Koletzko B.: Közepes láncú trigliceridek hatása a linolsav- metabolizmusra koraszülöttekben. Gyermekgyógy 55 (3), 549-260, 2004 IF: -

*Német nyelven, elsőszerzős*

1. **Funke S.**, Rodriguez M., Fink M., Demmelmair H., Ertl T., Szabó I., Koletzko B.: Auswirkungen mittelkettiger Triglyzeride auf den Metabolismus der Linolsäure. Z Geburtsh Neonatol 205 (Suppl 1), 2001 IF: 0,362
2. **Funke S.**, Morava É., Horváth A., Adamovich K., Kosztolányi Gy.: Wiederholtes Vorkommen der Lateralitätssequenz innerhalb einer Familie mit abweichender Expressivität. Monatsschr Kinderheilkd 152, 173-177, 2004 IF: 0,147

*Angol nyelven, társszerzős*

1. Ertl T., **Funke S.**, Sárkány I., Szabó I., Rascher W., Blum W.F., Sulyok E.: Postnatal changes of leptin levels in full-term and preterm neonates: Their relation to intrauterine growth, gender and testosterone. Biol Neonate 75: 167-176, 1999 IF: 0,784
2. Hadzsiev K., **Funke S.**, Morava É, Karteszi J., Bartsch O., Méhes K.: Cotsirilos syndrome in twins from unaffected parents. Eur J Hum Gen, 10 (Suppl 1), 115, 2002 IF: 3,136
3. Rodriguez M., **Funke S.**, Fink M., Demmelmair H., Turini M., Crozier G., Koletzko B.: Plasma fatty acids and <sup>13</sup>C linoleic acid metabolism in preterm infants fed a formula with medium-chain triglycerides. J Lipid Res, 44(1): 41-48, 2003 IF: 3,893
4. Ertl T., Mónos M., Vizer M., Hadzsiev K., Sárkány I., Vida G., **S. Funke**, Arany A., Szabó I.: Pulmonary adaptation of preterm infants after in utero direct fetal steroid administration to prevent respiratory distress syndrome. J Matern Fetal Neonatal Med 11 (Suppl 1), 29, 2002 IF:-
5. Minda H., Kovács A., **Funke S.**, Szász M., Burus I., Marosvölgyi T., Decsi T.: Fatty acids in human milk during the first month of lactation. Pediatr Res 52, 781, 2002 IF: 3,382
6. Decsi T., Kovács A., **Funke S.**, Marosvölgyi T., Burus I.: Daily comparison of fatty acid composition of early human milk following preterm and full-term delivery. J Pediatr Gastr Nutr 36(4), 577, 2003 IF: 1,402
7. Sárkány I., Ertl T., Vizer M., Vida G., **Funke S.**, Arany A., Szabó I.: Perinatal effects of fetal betamethasone treatment in preeclampsia and intrauterine growth restriction. J Perinat Med 31 (Suppl 1), 216, 2003 IF: 0,790

8. Szabó I., Vizer M., Arany A., Sárkány I., Vida G., **S. Funke**, Ertl T.: Direct fetal betamethasone treatment and neonatal outcome in VLBW human infants. *J Perinat Med* 31 (Suppl 1), 178, 2003 IF: 0,790
9. Decsi T., Kovács A., **Funke S.**, Marosvölgyi T., Burus I: Fatty acids in early human milk following preterm and full-term delivery. *Pediatr Res* 54, 600, 2003 IF: 3,064
10. Minda H., Kovács Á., **Funke S.**, Szász M., Burus I., Molnár S., Marosvölgyi T., Decsi T.: Changes of fatty acid composition of human milk during the first month of lactation: A day-to-day approach on the first week. *Ann Nutr Metab* 48(3):202-9, 2004 IF: 1,816
11. Kovács Á., **Funke S.**, Marosvölgyi T., Burus I., Decsi T.: Fatty acids in early human milk after preterm and full-term delivery. *J Pediatr Gastr Nutr* 41: 454-459, 2005 IF: 2,077

*Magyar nyelven, társszerzős*

1. Kovács A., **Funke S.**, Marosvölgyi T., Burus I., Decsi T.: Az anyatej zsírsavösszetétele koraszülöttet és érett újszülöttet szült anyákban. *Gyermekgyógy* 54 (Suppl 1), 78, 2003
2. Kovács A., Minda H., **Funke S.**, Szász M., Burus I., Marosvölgyi T., Decsi T.: Az anyatej zsírsavösszetételének változása a szoptatás első hónapjában. *Gyermekgyógy* 55 (4), 460-466, 2004
3. Gyarmati J., Ertl T., **Funke S.**, Sárkány I., Vida G., Szabó I.: Hyperglycaemia 1000 g alatti koraszülöttekben. *Gyermekgyógy* 55 (6): 633-639, 2004
4. Flach E., Ertl T., **Funke S.**, Veszprémi B., Mánfai Z., Szabó I.: Az in vitro fertilisatio neonatalis vonatkozásai. *Magy Nőorv L* 68: 375-380, 2005
5. Ertl T., Gyarmati J., Gaál V., Szabó I., Sárkány I., **Funke S.**, Vida G.: A hyperglycaemia szerepe a koraszülöttek retinopathiájának kialakulásában *Gyermekgyógy* 56: 599-604, 2005
6. Marosvölgyi T., Kovács A., Lohner Sz., **Funke S.**, Burus I., Decsi T.: Az anyatej zsírsavösszetétele koraszülött és érett újszülött szülő anyákban a szoptatás első három hetében. *Orv Hetil* 147 (31): 1459-1463, 2006
7. Flach E., Kellermayer R., Ertl T., Vida G., Sárkány I., **Funke S.**, Gyarmati J.: Cutis marmorata teleangiectatica congenita egy eset kapcsán. *Orv Hetil* 148 (36): 1717-1720, 2007

8. Vida G., Sárkány I., **Funke S.**, Gyarmati J., Storcz J., Gaál V., Vincze O., Ertl T.: Extrém alacsony gesztációs korú koraszülöttek életkilátásai. Orv Hetil 148 (48): 2279-2284, 2007

*Német nyelven, társszerzős*

1. Sárkány I., Ertl T., **Funke S.**, Szabó I.: Procalcitonin, Früherkennungsmarker der Perinatalen Infektion. Z Geburtsh Neonatol 37, 203, 1999 IF: 0,362
2. Sárkány I., **Funke S.**, Vizer M., Mónos M., Vida G., Hadzsiev K., Arany A, Szabó I., Ertl T.: Die Auswirkung der intrauterinen direkten fötalen Steroidgabe auf die Lungenreifung Frühgeborener. Kinderärztliche Praxis Soziale Pädiatrie und Jugendmedizin 73 (33), 155, 2002 IF: -

**Összesített impaktfaktor (citolható absztraktok nélkül): 13,399**

Összesített impaktfaktor absztraktokkal: 40,460