

Új és hagyományos biomarkerek vizsgálata kardiovaszkuláris betegségek diagnózisára és prognózisára

Ph.D. értekezés téziszfüzet

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Bogár Lajos
Kísérletes Kardiológia Program
Programvezető: Prof. Dr. Tóth Kálmán



Dr. Csiszár Beáta

I. sz. Belgyógyászati Klinika, Kardiológiai Tanszék,
Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Pécs

Témavezetők:

Dr. Kenyeres Péter, Ph.D.

Dr. Sándor Barbara, Ph.D.

I. sz. Belgyógyászati Klinika, Kardiológiai Tanszék,
Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pécs

Pécs, 2021.

1. Prológus

Biomarker lehet minden olyan jellemző, amelyet az élettani vagy kóros biológiai folyamatok, valamint egy expozícióra, beavatkozásra adott válasz indikátoraként mérnek. Használhatók diagnosztikára, terápia követésére, farmakodinamikai és gyógyszerbiztonsági mérésekre, valamint prediktív vagy prognosztikai célokra, illetve egy betegség kialakulására való fogékonyság megállapítására. Az ideális biomarker nagy érzékenységgel rendelkezik lehetővé téve a korai felismerést, és emellett kellően nagy specificitással is bír. Előnyös, ha könnyen, olcsón és nem invazív módon mérhető, valamint az eredmények rövid időn belül rendelkezésre állnak és reprodukálhatóak. A biomarkerek kutatása hozzájárulhat egy adott betegség hátterében álló kóros folyamatok alaposabb megismeréséhez, ezenkívül új terápiás megközelítésekre világíthatnak rá, amelyek potenciálisan javíthatják a kimenetelt.

Ph.D. munkám során a kardiovaszkuláris rendszert érintő patológias folyamatokat vizsgáltam, két különböző betegsoportra helyezve a hangsúlyt: szívmegeálláson és újraélesztésen átesett páciensek, valamint korai preeklampsziával diagnosztizált várandósok képezték kutatómunkám két fő irányvonalát.

Az **újraélesztett betegek** prognózisát illetően a legtöbb teszt a kedvezőtlen neurológiai kimenetel előrejelzésére irányul, így előnyben részesítendő a biomarkerek kellőképpen magas specificitása, hogy elkerülhető legyen a jó gyógyulási potenciállal rendelkező egyének tévesen kedvezőtlennek ítélt kimenetele. A magas specificitás által minimálisra csökkenthető a tévesen kedvezőtlennek vélt előrejelzések aránya, hiszen ez az életfenntartó terápia indokolatlan megvonásához vezethet. A szívmegeállást követő neuroprognosztikai vizsgálat kívánt specificitási szintje kérdéses, mivel 100%-os specificitás mellett olyan szintre csökkenne a marker érzékenysége, hogy megkérdőjelezhető lenne a klinikai relevanciája, viszont 1-2% hamis pozitív arányt megengedve klinikailag hasznosabb biomarkerhez juthatunk.

A **korai kezdetű preeklampszia** esetében az adott marker magas érzékenységét kell előnyben részesíteni a specificitással szemben, még akkor is, ha ez több hamis pozitív esetet eredményez. Ezáltal nagyobb arányban kiszűrhetőek a magas kockázattal rendelkező egyének, hiszen belátható, hogy a fals negatív, vagyis alacsony kockázat megítélése hátrányosabb a kimenetelre, mint a hamis pozitív eredmények. Tehát az alacsonyabb kockázati küszöbérték és alacsonyabb pozitív prediktív értékek előnyösebbek a preeklampszia fokozott kockázatával rendelkező egyén korai felismerése szempontjából, hiszen így biztosítható a korai preventív terápia (pl. alacsony dózisú aspirin profilaxis) bevezetésének lehetősége, a terhesség követésének irányítása és a szülés optimális időpontjának megválasztása.

I. ÚJRAÉLESZTÉST KÖVETŐ PROGNOZTIKA ÚJ ÉS HAGYOMÁNYOS BIOMARKEREKKEL

2. Bevezetés

Bár az elmúlt évtizedekben jelentősen javult a szívmegálláson átesett betegek túlélése az újraélesztést követően, a hosszú távú túlélés minden erőfeszítés ellenére továbbra is csekély maradt. A spontán keringés visszatérését követő halálozás főként a szisztémás iszkémiás reperfüziós károsodásból eredő iszkémiás agykárosodás, szívizom diszfunkció, többszervi elégtelenség vagy a tartósan fennálló kiváltó ok következménye. Az újraélesztés után 3 napon belül bekövetkező halálestek nagy többsége keringési elégtelenségnek tudható be, míg a későbbi mortalitás oka inkább a súlyos hipoxiás agykárosodás vagy az azt követő életfenntartó terápia megvonása. A kórházon kívüli szívmegállást (out-of-hospital cardiac arrest - OHCA) követő halál többnyire az ellátás neurológiai okból történő megvonása miatt következik be, míg ez kórházon belüli szívmegállás (in-hospital cardiac arrest - IHCA) után csupán az esetek kevesebb, mint egyharmadát képezi, és inkább a társbetegségek, a visszatérő hemodinamikai sokk és a többszervi elégtelenség okolható a mortalitásért.

A klinikai döntéshozatalt és a hozzátartozók megfelelő tájékoztatását támogató korai prediktorokra van szükség, hogy az ellátás megvonása ne következzen be olyan esetekben, ahol van remény a gyógyulásra, másrészt a költséges, elhúzódó kezeléseket mellőzzék azon betegeknél, akiknél érdemi javulás biztosan nem várható. A hipoxiás-iszkémiás agykárosodás súlyosságának megbízható értékelésére a jelenlegi ajánlások több különböző módszer kombinációját javasolják, beleértve a biomarkerek használatát is. A különböző mérési technikák és változatos küszöbértékek miatt kihívást jelent megbízható biomarkert találni, emellett a klinikai gyakorlatban való elterjedésüket gátolhatja az olykor korlátozott hozzáférhetőségük és használatukkal kapcsolatos gyenge evidenciák az alacsony létszámú vizsgálatok miatt. Ezenkívül nehéz meghatározni a megfelelő határértéket, amely a kedvezőtlen kimenetelre maximális specificitással és elfogadható érzékenységgel rendelkezik. Másrészt a biomarkerek számos előnnyel rendelkeznek: kvantitatív információt nyújtanak, nem befolyásolja őket a szedáció vagy a bénulás jelenléte. Megfelelő laboratóriumi háttérrel könnyen mérhetőek, és más klinikai adatokkal szemben vakon értékelhetőek, kizárva a beteg kimenetelére vonatkozó szubjektív jóslatokat. Következésképpen a hagyományos biomarkerek új szempontok szerinti értékelése és új biomarkerek felfedezése, majd prognosztikai algoritmusokba való beépítése mindenképpen indokolt.

A jelenlegi ajánlások többnyire a nem reagáló, kómában fekvő páciensek neurológiai prognózisára irányulnak, viszont az újraélesztettek nagy része elfogadható neurológiai funkciót ér el, majd az idegrendszeri állapottól függetlenül a társbetegségek, a hemodinamikai instabilitás vagy a később kialakuló többszervi elégtelenség miatt veszti életét. Ezért fontos lenne a prognosztikai stratégia kiegészítése és megfontolandó a kizárólag neurológiai károsodást tükröző biomarkerek vizsgálata mellett az általános túlélésről információt szolgáltató biomarkerek felkutatása, melyek hozzájárulhatnak az etiológia jobb megértéséhez és az újraélesztés utáni kezelés irányításához.

2.1. Az L-arginin-nitrogén-monoxid útvonal molekulái

Szívmegállás után az érendotél, és a mikrocirkuláció működési zavara alakulhat ki, amelyek hozzájárulhatnak a későbbi morbiditáshoz és mortalitáshoz. A sérült endotél egyik fő jellemzője a károsodott nitrogén-monoxid szintézis, amely egy számos intracelluláris hatással rendelkező pleiotróp molekula. Többek között hozzájárul a vazorelaxációhoz, endotél regenerációjához, a leukociták kemotaxisához és a vérlemezkék adhéziójának gátlásához. Az L-arginin útvonal molekulái a nitrogén-monoxid szintézisének és az érrendszer megfelelő működésének fő szabályozói, így az endotél diszfunkció indikátorai. Az L-arginin a nitrogén-oxid-szintáz szubsztrátja, amely az endotélsejtekben katalizálja a kétlépéses oxidációját nitrogén-monoxiddá és L-citrullinná, így szabályozza az érrendszeri tónust és a kardiovaszkuláris homeosztázist. A metilargininek a nitrogén-oxid-szintáz katalitikus funkciójának fő szabályozói és endogén inhibitorai. Az L-arginin közvetlen kompetitora az aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) a nitrogén-oxid-szintáz katalitikus helyéhez való kötődésben, emellett az ADMA és a szimmetrikus dimetilarginin (SDMA) a sejtbe történő szállítás szintjén is versenyez az L-argininnel. Az ADMA gátolja a nitrogén-oxid képződését és növeli az oxidatív stresszt az érrendszeri endotél- és simaizomsejtekben. A nitrogén-monoxid biológiai hozzáférhetősége az L-arginin és az ADMA közötti egyensúlytól függ, következésképpen a csökkent L-arginin/ADMA arány gátolja a nitrogén-monoxid termelését. Emelkedett ADMA-szintet figyeltek meg magas vérnyomás, hiperkoleszterinémia, cukorbetegség és érelmeszesedés esetén, és a magasabb koncentrációk összefüggésbe hozhatók számos szív- és agyi érrendszeri rendellenesség progressziójával és kimenetelével, valamint a kritikus állapotú és szeptikus betegek halálozásával.

2.2. Sejthalál és cytokeratinok

A citokeratinok a sejtváz szerkezeti fehérjéi, az intermedier filamentum szupercsalád tagjai a hám- és parenchimasejtekben. A szívmegállás és az iszkémiás-reperfúziós körülmények következményeként a szisztémás sejtkárosodás és az azt követő apoptotikus és nekrotikus sejthalál felerősödik. Apoptózis során a kaszpázok hasítják a citokeratin-18 (CK-18) fehérjét, kaszpáz-hasított citokeratin-18 (CCCK-18) fragmentumokat képezve, amely az apoptózisra specifikus sejthalál biomarkernek tekinthető. Nekrotikus sejthalált követően teljes hosszúságú CK-18 szabadul fel a keringésbe. A kaszpázok által hasított CK-18 fragmentumok monoklonális antitesttel felismerhetők, és a teljes CK-18 mérésével kombinálva a CCCK-18/CK-18 arány segítségével meghatározható, hogy a sejthalál mely típusa dominál. Minél alacsonyabb ez az arány, annál inkább a nekrozis dominál a sejthalál folyamataiban. Korábbi vizsgálatok a megnövekedett CCCK-18 szinteket összefüggésbe hozták szeptikus és kritikus állapotú betegek mortalitásával.

3. Hipotézis és célkitűzések

Célunk olyan potenciálisan ígéretes biomarkerek azonosítása volt az újraélesztés utáni korai fázisban, amelyek értékes információt hordoznak nem szelektált újraélesztett betegek általános túléléséről. A szisztémás endotélkárosodás és a sejthalál folyamatok feltehetően felerősödnek az újraélesztést követő iszkémiás-reperfúziós sérülés következményeként, így ezeket a patológiai folyamatokat tükröző markerek vizsgálatára összpontosítottunk. Az L-arginint, az ADMA-t, az SDMA-t, a CK-18-at és annak kaszpáz-hasított formáját korábban

különböző akut és krónikus kardio- és cerebrovaszkuláris rendellenességek és kritikus állapotú páciensek kimenetelét jelző prognosztikai markerként írták le. Bár ezen markereket még nem vizsgálták heterogén újraélesztett populációban, feltételeztük, hogy a keringő szintek összefüggésbe hozhatók a kimenetellel a szívmegállás körülményeitől függetlenül.

- Vizsgálatunk elsődleges célja a fent említett markerek perifériás vérmintában detektálható koncentrációjának és ismételt mintavételezéssel a kinetikájuknak vizsgálata volt az újraélesztés utáni korai szakaszban, valamint ezeket kívántuk túlélés szerint jellemezni.

- Másodlagos célkitűzéseink között szerepelt, hogy értékeljük a rutin prognosztikai pontrendszerrel (Simplified Acute Physiology Score - SAPS II - és Sequential Organ Failure Assessment - SOFA), valamint a szívmegállás és az újraélesztés jellemzőivel és körülményeivel való összefüggéseiket. Célunk volt továbbá annak feltárása, hogy a markerek szintje mutat-e összefüggést a neurológiai állapottal.

- Az új biomarkerek azonosítása mellett vizsgáltuk a neuron-specifikus enoláz (NSE) szintjét, a túlélés és a neurológiai kimenetel függvényében a konvencionálisan használt laboratóriumi, klinikai és vitális paramétereket, valamint a SAPS II és a SOFA prognosztikai szerepét.

4. Anyag és módszer

4.1. A vizsgálat felépítése, résztvevők

Prospektív, egy-centrumos megfigyeléses kohorsz vizsgálatunkat a STROBE kritériumoknak (STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology (STROBE) Statement) megfelelően kialakítva 2018. január – 2019. január között folytattuk a Pécsi Tudományegyetem, I. sz. Belgyógyászati Klinika, Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet, Sürgősségi Orvostani Tanszék intenzív osztályain. Felnőtt, 18. életévet betöltött pácienseket vontunk be sikeres újraélesztést követően, etiológiától, a kezdeti ritmustól, helyszíntől (kórházi vagy kórházon kívüli) függetlenül. A spontán keringés visszatérését tekintettük sikeres újraélesztésnek. Az intenzív osztályokon standard poszt-reszuszcitációs ellátást alkalmaztak minden alany esetében a kutatócsoport munkájától függetlenül. Terápiás hipotermiában a betegek nem részesültek, az általános cél azonban a normotermia fenntartása és a láz megelőzése volt. A szívmegállás után 30 napig követtük alanyainkat. A protokollt a Pécsi Tudományegyetem Helyi Kutatás Etikai Bizottsága hagyta jóvá (6941 - PTE 2018.), amely az embereken végzett orvosi kutatások etikai alapelveit rögzítő Helsinki Nyilatkozatot követte. A betegektől vagy törvényes hozzátartozótól nyert írásos beleegyezést követően kerültek bevonásra a páciensek.

4.2. Adatgyűjtés

Általános információk rögzítése mellett (pl. életkor, nem és társbetegségek) a szívmegállást követő első 24 óra legrosszabb paraméterei alapján prognosztikai pontszámokat (SOFA, SAPS II) számoltunk online kalkulátorok segítségével (<https://www.mdcalc.com/>). Feljegyeztük a szívmegállás feltételezett okát, és csoportokra osztottuk őket a populációnkban leggyakrabban előforduló etiológiai tényezők szerint (iszkémias szívbetegség, szívelégtelenség; szepszis; hiperkalémia; aspiráció; hipotermia; stroke; tüdőembólia; tüdőgyulladás vagy ismeretlen ok). Az újraélesztés körülményeit is rögzítettük (pl. a

szívmegállás helyszíne – IHCA vagy OHCA; kezdeti ritmus; az újraélesztés időtartama; adrenalin-szükséglet és -dózis; gépi lélegeztetés szükségessége). A felvételkor dokumentáltuk a legfontosabb vitális paramétereket (szisztolés és diasztolés vérnyomás; artériás középnyomás; szívfrekvencia és testhőmérséklet). Az újraélesztést követő ellátás során rutinszerűen mért laboratóriumi paramétereket is feljegyeztük (pl. ionok, a vese- és májfunkció markerei, gyulladási paraméterek, troponin-T, laktát-dehidrogenáz, teljes vérkép, laktát, vérgáz paraméterek). Vizsgáltuk továbbá az újraélesztést követő időszakban a létfontosságú szervrendszerek (azaz a keringés, a légzés, a máj- és a vese-funkció) elégtelenségének jelenlétét.

4.3. Mintagyűjtés és -feldolgozás

A vérmintákat rutinszerűen biztosított artériás vagy centrális vénás kanülből nyertük Vacutainer® EDTA-csővekbe a szívmegállást követő 6 órán belül, majd 24 ± 3 és 72 ± 3 óra múlva. A vérmintákat 10 percen belül 15 percig 1500 g-vel centrifugáltuk. A plazma felülúszót azonnal krio csővekbe adagoltuk, és a feldolgozásig -80 °C -on tároltuk. A CK-18, CCCK-18 és NSE plazmakoncentrációját a Pécsi Tudományegyetem Laboratóriumi Medicina Intézet munkatársaival együttműködve határoztuk meg enzimhez kötött immunoszorbens vizsgálat (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA) segítségével (CCCK-18, CK-18 - Shanghai YL Biotech Co., Ltd., Kína; NSE - FineTest, Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., Kína) 5,64 ng/L, 19,00 ng/L és 1,41 ng/mL kimutatási határral. A CK-18-at felismerő antitestek mind az ép, mind a hasított fragmentumokhoz kötődnek, így a mérés a teljes sejthalálra utal, míg a CCCK-18 vizsgálat csak a hasított formát jelöli, így közvetve kizárólag az apoptózisra utal.

Az L-arginint, az ADMA-t és az SDMA-t nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával (high performance liquid chromatography: HPLC) mértük a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékének munkatásainak közreműködésével. Az abszolút értékek mellett kiszámítottuk a 6 órától 24 órára, illetve a 24 órától 72 órára bekövetkező koncentráció változásokat. Továbbá kiszámítottuk a származtatott paramétereket: CCCK-18/CK-18 arányát a sejthalál domináns módjának megállapítására, valamint a nitrogén-monoxid termelődését tükröző L-arginin/ADMA arány. A minták feldolgozását állandó személyzet végezte változatlan műszerekkel, anonim módon a klinikai adatoktól függetlenül. A mérések eredményéről a kezelést végző klinikusokat nem tájékoztattuk, hogy elkerüljük a terápiás döntéshozatali folyamatok befolyásolását.

4.4. Végpontok

A követési időszak a szívmegállás után 30 napig tartott, ezen belül három különböző mortalitási végpontot jelöltünk meg: 72 órán belül, az intenzív osztályos kezelés alatt és 30 napon belül bekövetkező elhalálozás. Emellett másodlagos végpontként meghatároztuk a SOFA és a SAPS II pontszámokat, a különböző szervrendszeri elégtelenségek (keringési, légzési, máj- és veseelégtelenség) jelenlétét és a neurológiai állapotot, melyet CPC kategóriák (Cerebral Performance Category) szerint soroltunk be. A CPC 1 ép agyműködést vagy minimális agykárosodást jelent, a CPC 2 a kisebb neurológiai fogyatékossgal élő betegeket, a CPC 3 a különböző súlyos neurológiai fogyatékossgok széles skáláját foglalja magában, a CPC 4 a tartós vegetatív állapotot, míg a CPC 5 a halált vagy agyhalált jelenti. Az intenzív

osztályon való tartózkodás során elért legjobb neurológiai állapotot rögzítettük, majd kedvező (CPC 1-3) és kedvezőtlen (CPC 4-5) neurológiai kimenetel szerint kettéválasztottuk.

4.5. Statisztikai elemzés

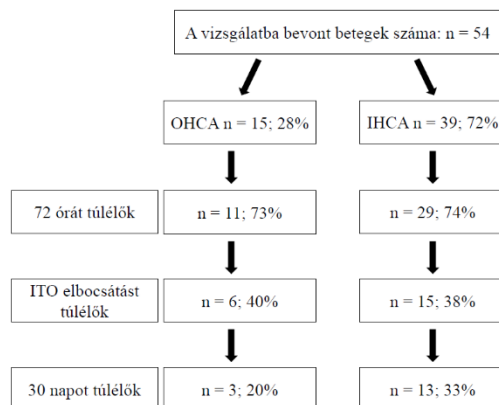
Kolmogorov-Smirnov-teszt segítségével állapítottuk meg az adatok megoszlásának normalitását. A változóinkat mediánként és interkvartilis tartományként, átlag \pm szórásként vagy gyakoriság és százalékos arányok formájában tüntettük fel. A csoportok közötti adatok összehasonlítására Mann-Whitney U-tesztet, Student-féle T próbát vagy Chi-négyzet tesztet alkalmaztunk. A korrelációanalízist Spearman korrelációs együtthatójának (ρ) kiszámításával végeztük. A szignifikáns korrelációt mutató változók esetében lineáris logisztikus regressziós elemzést hajtottunk végre, és az R^2 értékeket közöltük. A vizsgált markerek különböző végpontokhoz tartozó legideálisabb határértékeinek meghatározására ROC-analízist (receiver operating characteristic) és a hozzá tartozó görbe alatti területet (area under the curve - AUC) használtunk. Több ROC-görbe összehasonlítására "z" teszteket alkalmaztunk. Egyváltozós bináris logisztikus regresszióanalízist végeztünk a kezdeti változók és a halálozás közötti kapcsolat értékelésére, a megfelelő béta-értékek és 95%-os konfidenciaintervallumok feltüntetésével. Az egyváltozós elemzésben $p \leq 0,05$ értékű változókat a multikollinearitás elvét figyelembe véve vontuk be a többváltozós modellekbe. Többváltozós logisztikus regresszióanalízist alkalmaztunk a halálozás önálló prediktorainak azonosítására. A statisztikai elemzéshez az IBM SPSS Statistics® 27.0 szoftvert használtuk és $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

5. Eredmények

5.1. Vizsgálati populáció

Összesen 54 beteget vontunk be (medián életkor: 67 [61-78] év, 48% férfi); 72%-uk IHCA. A betegek fele az intenzív osztályon való tartózkodás alatt elfogadható neurológiai állapotot (CPC 1-3) ért el, míg a másik felük kómában, tartós vegetatív állapotban vagy agyhalálban szenvedett (CPC 4-5). 8 páciens elfogadható neurológiai állapot (CPC 1-3) mellett később egyéb ok miatt hunyt el az intenzív osztályon. Az *1. ábra* a túlélők pontos számát mutatja az egyes vizsgált végpontok szerint. A túlélők és az elhunytak jellemzői a 30 napos, az intenzív osztályos és a 72 órás halálozás szerint a teljes Ph.D. értekezés táblázataiban szerepelnek (*3. táblázat és 1-2. melléklet*).

A 30 napot túlélők szignifikánsan magasabb CPC kategóriába kerültek (3,0 [2,3 - 3,0] vs. 4,5 [3,0 - 5,0]; $p < 0,001$), ahogyan az várható volt, és szignifikánsan kedvezőbb SAPS II és SOFA pontszámokat kaptak. Az életkor, a nem, az újraélesztés időtartama, és a kezdeti ritmus sem befolyásolta a túlélést egyik vizsgált végpont szerint sem, és a halálozás független volt attól, hogy a szívmegállás kórházban vagy kórházon kívül, illetve munkaidőben vagy éjszakai műszakban/hétvégén történt. A túlélők és elhunytak között hasonló volt a gépi lélegeztetés és az adrenalin szükséglet aránya, valamint felvételkor rögzített alapvető vitális paramétereik sem mutattak lényegi eltérést. A társbetegségek, a kórtörténet és a szívmegállás feltételezett okának százalékos megoszlása szintén nem mutatott releváns különbséget a túlélők és az elhunytak között.



1. ábra. A túlélők száma és százalékos aránya a szívmegállást követő 72 órával, az intenzív osztályról való elbocsátáskor és 30 nap múlva (OHCA: kórházon kívüli szívmegállás; IHCA: kórházi szívmegállás; ITO: intenzív osztály)

5.2. L-arginin, ADMA, SDMA

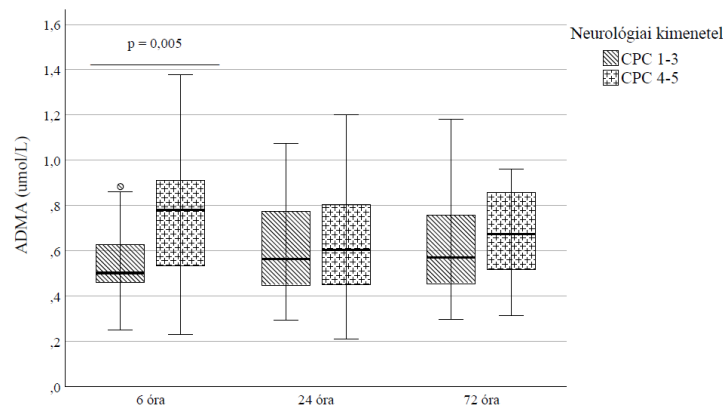
A **72 órás mortalitás** szerint megvizsgáltuk az L-arginin, az ADMA és az SDMA plazmaszintjét, valamint változásukat a szívmegállást követő 6 órán belül és 24 óra múlva (4. táblázat a teljes Ph.D. értekezésben). Szignifikánsan magasabb kezdeti ADMA plazmakoncentráció volt megfigyelhető a szívmegállást követő 72 órán belül elhunyt betegeknél (0,55 [0,45 – 0,69] $\mu\text{mol/L}$ vs. 0,88 [0,64 – 0,97] $\mu\text{mol/L}$, $p=0,001$). Viszont fontos megjegyezni, hogy a kezdeti ADMA-szintek nem mutattak összefüggést azzal, hogy a szívmegállás kórházon belül vagy azon kívül történt.

Az **intenzív osztályos halálozást** elemezve az L-arginin útvonal molekulái közül egyik sem mutatott szignifikáns eltérést a túlélők és az elhunytak között. A kezdeti ADMA-szintek tendenciózusan magasabbak maradtak az intenzív osztályon elhunytak körében, de a különbség nem érte el statisztikailag a szignifikanciát. Az intenzív osztályon elhunytak kezdeti plazma ADMA-szintje 24 órára csökkent, míg a túlélő csoport értékei enyhén emelkedtek (-0,08 [-0,16 – 0,05] $\mu\text{mol/l}$ vs. 0,07 [-0,04 – 0,11] $\mu\text{mol/l}$, $p=0,024$) (5. táblázat a teljes Ph.D. értekezésben). A kórházon belül szívmegállást elszenvedő páciensek alcsoportjában az intenzív osztályon elhunytak körében szignifikánsan alacsonyabb volt a 6 órás L-arginin/ADMA arány (52,16 [34,96 – 71,99] vs. 73,43 [51,24 – 98,56]; $p=0,023$) (6. ábra a teljes Ph.D. értekezésben).

A markerek kinetikáját a **30 napos mortalitás** szerint elemezve a csoportok között ellentétes változás volt tapasztalható az ADMA szintjében 6 és 24 óra között az intenzív osztályos halálozás szerinti megfigyeléshez hasonlóan (elhunytaknál: -0,08 [-0,16 – 0,06] $\mu\text{mol/L}$ vs. túlélőknél: 0,07 [-0,03 – 0,11] $\mu\text{mol/L}$, $p=0,028$) (6. táblázat a teljes Ph.D. értekezésben). Ezzel szemben az L-arginin, és az SDMA szintje vagy ezek változása egyik végpont szerint sem mutatott szignifikáns különbséget. Az L-arginin/ADMA arány a szívmegállást követő 72 óráig enyhén emelkedett a teljes populációban a mortalitástól függetlenül (6 óra: $66,04 \pm 4,33$; 24 óra: $80,04 \pm 5,35$; 72 óra: $99,99 \pm 7,13$; $p < 0,05$) (7. ábra a teljes Ph.D. értekezésben).

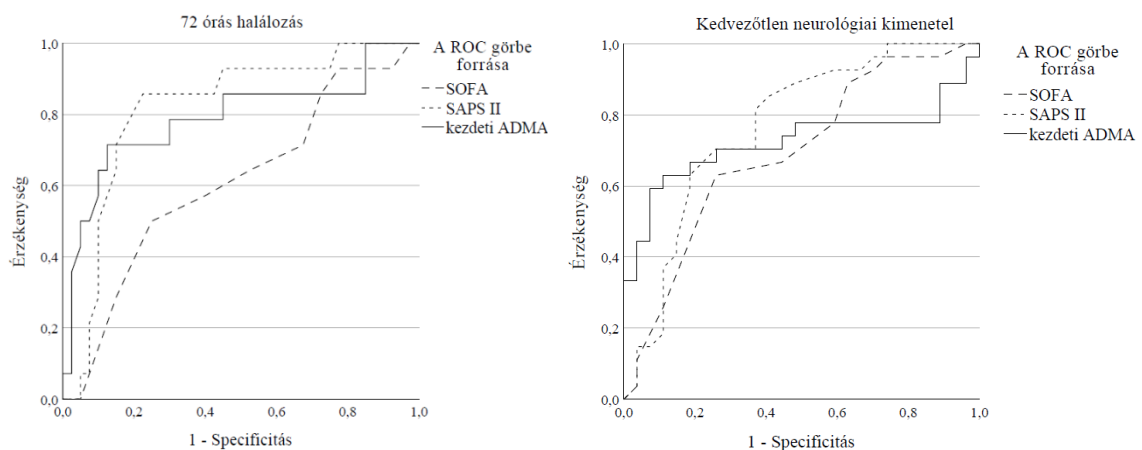
Sem a SAPS II, sem a SOFA pontszám nem tért el szignifikánsan az IHCA és OHCA alcsoportok között. A kezdeti ADMA-szintek és a SAPS II pontszám pozitívan korrelált egymással ($\rho=0,393$, $R^2=0,178$, $p=0,002$) (8. ábra a teljes Ph.D. értekezésben).

A tartós vegetatív állapotban vagy agyhalálban szenvedő betegeknél (CPC 4-5) jelentősen emelkedett kezdeti ADMA-szinteket detektáltunk (2. ábra). A 3. ábra a SOFA, a SAPS II és a kezdeti ADMA kombinált ROC analízisének görbéit mutatja a 72 órás mortalitásra és a rossz neurológiai kimenetelre (CPC 4-5). Eredményeink alapján a SAPS II és a kezdeti ADMA AUC értékei hasonlóak voltak, hasonló érzékenységgel és specifitással a 72 órás halálozás előrejelzésére, ezzel szemben a SOFA gyenge prognosztikai információt nyújtott a mortalitásra vonatkozóan (SAPS II AUC: 0,817 [0,688 – 0,946], $p<0,001$; ADMA AUC: 0,789 [0,628 – 0,950], $p=0,001$; SOFA AUC: 0.608 [0.433 – 0.783], $p=0,232$).



2. ábra: ADMA-szintek kedvező (CPC 1-3) és kedvezőtlen (CPC 4-5) neurológiai kategória szerint

A kezdeti ADMA ROC analízise a kedvezőtlen neurológiai kimenetel (CPC 4-5) előrejelzésére 0,723 [0,574 – 0,871] AUC értékkel rendelkezett ($p=0,005$) és a legoptimálisabb határértékét $>0,65 \mu\text{mol/l}$ -ben határoztuk meg (szenzitivitás: 66,7%; specifitás: 81,5%). A $0,89 \mu\text{mol/L}$ feletti értékek maximális specifitással (100%) rendelkeztek viszont jelentősen csökkent, 33,3%-os érzékenységgel.



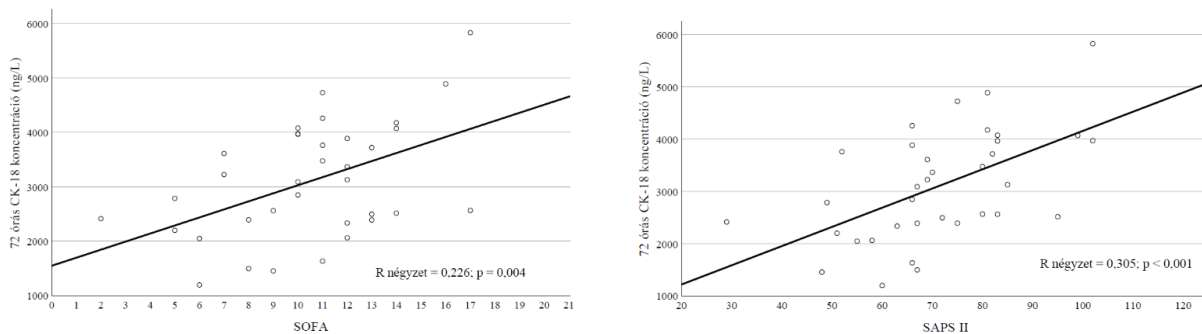
3. ábra: A kezdeti ADMA, SOFA és SAPS II ROC görbéi a 72 órás mortalitás és kedvezőtlen neurológiai kimenetel szerint

A ROC analízis alapján a kezdeti ADMA-szint a 72 órán belül bekövetkező elhalálozás prediktorának bizonyult, ahol a legoptimálisabb határértékét $>0,81 \mu\text{mol/l}$ -ben határoztuk meg

(szenzitivitás: 71,0%; specificitás: 87,5%). A szívmegállást követő 6 órán belül gyűjtött minden változóval egyenként egyváltozós logisztikus regresszióelemzéseket végeztünk és a 72 órás halálozás szignifikáns markereiként azonosítottuk a kezdeti ADMA-, a sérumbikarbonát- (HCO_3^-) és a laktát szinteket. A többváltozós elemzés alapján a kezdeti ADMA (esélyhányados: 1,8 – az ADMA-szint 0,1 $\mu\text{mol/l}$ -el történő emelkedése esetén; 95%-os konfidencia intervallum: 1,252 – 2,611; $p=0,002$) független előrejelzője a szívmegállást követő 72 órás halálozásnak (7. táblázat a teljes Ph.D. értekezésben).

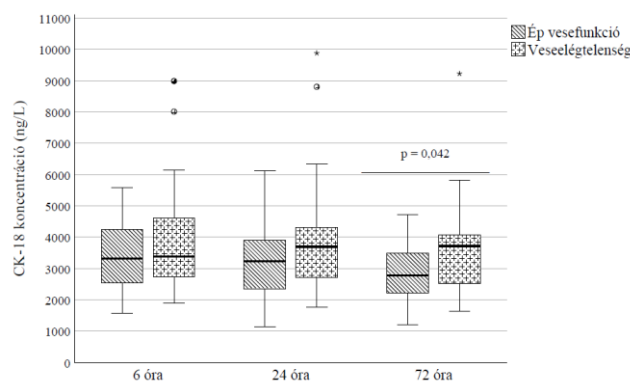
5.3. A sejtkárosodás és a sejthalál markerei - CK-18, CCCK-18 és NSE

Jelen alfejezetben tárgyalt markerek egyikének koncentrációját vagy kinetikáját illetően sem volt szignifikáns különbség a túlélők és az elhunytak között a 72 órás, az intenzív osztályos vagy a 30 napos mortalitás szerint. Az első három nap során egyik betegcsoportban sem tapasztaltunk szignifikáns változást a markerek szintjében. A sejthalált jelző markerek és a neurológiai kimenetel közötti kapcsolatot sem tudtuk megerősíteni. Bár a kezdeti és a 24 órás CK-18 értékek nem mutattak összefüggést a prognosztikai pontszámokkal, a 72 órás CK-18 szint szignifikánsan korrelált a SAPS II ($\rho=0,581$; $p<0,001$) és a SOFA pontszámokkal ($\rho=0,418$; $p=0,012$). A lineáris regressziós elemzések eredményeit a 4. ábra szemlélteti. A CCCK-18, az apoptózis markere tekintetében nem tapasztaltuk ezt az összefüggést.



4. ábra. A 72 órás CK-18 szintek lineáris regressziós analízise a SOFA és a SAPS II pontszámmal

Eredményeink szerint a szervrendszeri elégtelenségek száma és a citokeratinok által tükrözött sejthalál mértéke között sem volt kimutatható kapcsolat. Másrészt az alcsoport-elemzés alapján a CK-18 szintje nem csökkent az újraélesztést követő első három napon veseelegtelenség esetén az intakt vesefunkciójú betegekhez képest, ahol csökkenő kinetika volt megfigyelhető, ami a 72. órára szignifikáns különbséget eredményezett (5. ábra).

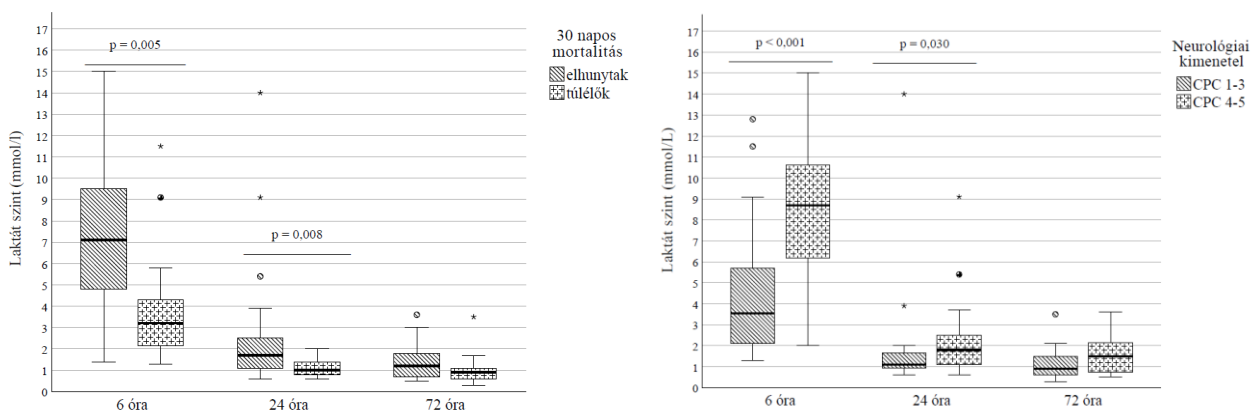


5. ábra: CK-18 szintek normál vagy károsodott vesefunkció szerint

Alcsoport-elemzéseket végeztünk az újraélesztés jellemzőinek különböző szempontjai szerint, annak alaposabb megértése érdekében, hogy mely tényezők befolyásolhatják a CK-18 és a CCK-18 sejthalál markerek keringő koncentrációját a szívmegeállás után. Eredményeink alapján a szívmegeállás helye (IHCA vagy OHCA) vagy az újraélesztés időtartama, illetve a kezdeti ritmus nem állt kapcsolatban a keringő markerek szintjével egyik vizsgált időpontban sem az újraélesztés utáni első három napban. A nem szignifikáns eredmények ábráit a teljes Ph.D. értekezésben szemléltetjük (11-20. ábra).

5.4. Laboratóriumi paraméterek - laktát

A szívmegeállást követő 30 napos halálozás alapján elemeztük a rutin ellátás részeként az első három napban mért laboratóriumi paramétereket, melyeket a teljes Ph.D. értekezésben részletezünk (8. táblázat). A kezdeti, vagyis 6 órán belül mért és a 24 órás laktát szint magasabb volt az elhunytak körében (kezdeti: 3,2 [2,1 – 4,6] vs. 7,1 [4,3 – 9,7] mmol/L; $p=0,005$; és 24 óra: 1,0 [0,8 – 1,5] vs. 1,7 [1,1 – 2,5] mmol/L; $p=0,008$), valamint a magasabb kezdeti (3,6 [2,1 – 5,7] vs. 8,7 [6,0 – 10,7] mmol/L; $p<0,001$) vagy 24 órás laktát-szinttel rendelkező betegek (1,1 [0,9 – 1,7] vs. 1,8 [1,1 – 2,5] mmol/L; $p=0,030$) hajlamosabbak voltak a tartós vegetatív állapotra vagy agyhalálra (CPC 4-5) (6. ábra).

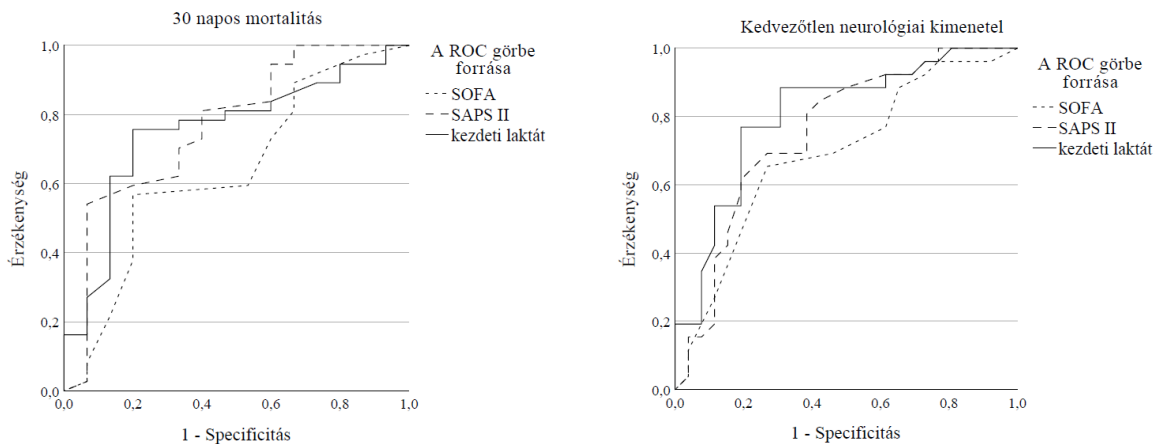


6. ábra: Laktát szintek a vizsgált időpontokban a 30 napos halálozás és a neurológiai kategória szerint (CPC 1-3 elfogadható, CPC 4-5 kedvezőtlen kimenetelt jelent).

A CK-18, a CCK-18, az NSE vagy azok változása sem mutatott szignifikáns összefüggést a 30 napos halálozással az egyváltozós regresszióelemzéseket elvégezve. Az eddigi analízis alapján úgy tűnt azonban, hogy a kezdeti laktát előre jelezheti a 30 napos halálozást és a neurológiai kimenetelt, míg a későbbi, 24 és 72 órás értékek a kezdeti értékhez képest csekély jelentőségűek voltak, ezért a későbbi statisztikai elemzésekbe a kezdeti, vagyis szívmegeállást követően 6 órán belül mért laktátot vontuk be.

A 30 napos mortalitás előrejelzésére ROC analízist végeztünk a SOFA, a SAPS II és a laktát szintek kombinációjával. A SOFA AUC értéke 0,638 [0,465 – 0,811] ($p=0,122$), a SAPS II AUC értéke 0,767 [0,616 – 0,917] ($p=0,003$) és 0,753 [0,607 – 0,899] ($p=0,005$) a laktát esetében, vagyis a SOFA gyenge, a SAPS II közepes értékkel bírt, míg a laktát AUC értéke önmagában a SAPS II pontszámok értékéhez hasonlónak bizonyult a ROC analízis alapján. Azonban az egyes AUC értékeket összehasonlítva statisztikailag szignifikáns különbséget nem

tudtunk kimutatni (SAPS II vs. laktát $p=0,892$; SAPS II vs. SOFA $p=0,088$; laktát vs. SOFA $p=0,373$) (7. ábra).



7. ábra: A kezdeti laktát, a SAPS II és a SOFA ROC analízisének görbéje a 30 napos mortalitás és a kedvezőtlen neurológiai kimenetel (CPC 4-5) szerint

Ugyanezekkel a változókkal további elemzéseket végeztünk a kedvezőtlen neurológiai kimenetel (CPC 4-5) előrejelzésére. Az AUC érték $0,689 [0,544 - 0,835]$ ($p=0,019$) volt SOFA esetében, $0,757 [0,623 - 0,891]$ ($p=0,001$) a SAPS II esetében és $0,806 [0,685 - 0,928]$ ($p<0,001$) a laktát esetében. A laktát önmagában jó prediktív értékkel rendelkezett a rossz neurológiai kimenetelt tekintve, azonban az AUC értékek közötti különbségek statisztikailag szintén nem bizonyultak szignifikánsnak (SAPS II vs. laktát $p=0,356$; SAPS II vs. SOFA $p=0,322$; laktát vs. SOFA $p=0,129$). A kezdeti laktát önálló ROC görbéje $4,90$ mmol/l határértéket jelzett a 30 napos halálozás előrejelzésére (érzékenység: 74%; specificitás: 80%) és $6,00$ mmol/l-t (érzékenység: 84%, specificitás: 80%) a rossz neurológiai kimenetelre.

6. Megbeszélés

6.1. Az eredmények összefoglalása

Vizsgálatunkban olyan korai biomarkerek azonosítását tűztük ki célul, amelyek potenciális prognosztikai értékkel bírnak az általános túlélésre nézve nem szelektált újraélesztett betegek körében. A biomarkerek két fő csoportját vizsgáltuk: az L-arginin, ADMA és SDMA vonalat, amelyek a károsodott endotélfunkciót és érszabályozást tükrözik; valamint a CK-18-at és annak apoptózis során kaszpázok által hasított formáját, amelyek közvetve az iszkémiás inzultus eredményeként bekövetkező sejthalálra utalnak. Az eddig rendelkezésre álló szakirodalomban az említett biomarkereket nem válogatott reanimált betegek körében még nem értékelték, így az újraélesztést követő első három napon ismételt mintavétel segítségével vizsgáltuk az abszolút plazma koncentrációkat és kinetikát, hogy megtaláljuk a legmegfelelőbb időpontot, amikor ezeknek a paramétereknek a legnagyobb prognosztikai értékük lehet. Elemeztük továbbá a rutinszerűen mért laboratóriumi paramétereket, a prognosztikai pontrendszereket és a korábbi vizsgálatok tárgyát képező NSE-t. Eredményeink alapján az emelkedett kezdeti ADMA-szintek súlyosabb hipoxiás inzultusra utalhatnak, és jelezhetik a rövid távú, 72 órán belül bekövetkező mortalitást. Azonban az L-arginin útvonal molekulái és a későbbi halálozás között nem volt egyértelmű kapcsolat. Bár a 72 órás CK-18 értékek

korreláltak a SAPS II és SOFA pontszámokkal, nem tudtuk bizonyítani e sejthalál markerek prognosztikai értékét a mortalitásra vagy a neurológiai kimenetelre vonatkozóan sem. Ezenkívül meglepő módon az NSE sem volt hasznos prediktora a túlélésnek vagy a neurológiai kimenetelnek. Korábbi szakirodalmi adatokkal összhangban az emelkedett kezdeti laktát a 30 napos mortalitás és a kedvezőtlen neurológiai kimenetel ígéretes indikátorának bizonyult. Szeretnénk hangsúlyozni, hogy szükség van egy általánosan alkalmazható prognosztikai algoritmus kidolgozására új vagy már ismert és megbízható biomarkerek bevonásával, amely segíthet az újraélesztett betegek általános kimenetelének becslésében, azon egyének esetében is, akiről korlátozott információ áll rendelkezésre a szívmegállás és az újraélesztés körülményeiről.

6.2. L-arginin útvonal molekulái

Egyik legfontosabb eredményünként kiemelendő, hogy az emelkedett kezdeti ADMA-szinteket a rövid távú halálozás független prediktoraként azonosítottuk, és bizonyítottuk a kedvezőtlen neurológiai kimenetellel való kapcsolatát. Az L-arginin, az SDMA, az L-arginin/ADMA arány és ezek kinetikája azonban nem bizonyultak hasznos indikátornak. Az ADMA számos kardiovaszkuláris betegség ismert prognosztikai markere, ezért ésszerű megfigyelésnek tűnik, hogy az ADMA az újraélesztést követő ellátás során a korai halálozást jelzi, ami főként a kardiovaszkuláris rendszer elégtelensége és a hemodinamikai instabilitás miatt következik be. Az L-arginin útvonal molekuláit számos hipoxiás állapotban vizsgálták, ahol az emelkedett ADMA-szinteket összefüggésbe tudták hozni a betegség súlyosságával vagy állapotrosszabbodással. Akut iszkémiás sztrók után emelkedett plazma ADMA-szinteket mutattak ki, és a növekvő koncentrációk kedvezőtlenebb kimenetelhez társultak. Az endoteliális nitrogén-monoxid termelését korlátozhatja az ADMA túlsúlya, ami szintén fokozhatja az agyi artériák merevségét és tónusát agyi hipoperfúziót eredményezve. Az iszkémiás sztrókot követő emelkedett kezdeti ADMA-értékek összefüggésben állhatnak a patológiás endotélfunkcióval, vagy az oxidatív stressz következményei is lehetnek. Az ADMA önmagában is hozzájárulhat az agykárosodáshoz azáltal, hogy elősegíti az excitotoxikus neuronhalált. Ezért a túlzottan magas kezdeti ADMA-szintek kedvezőtlenül befolyásolhatják az agyi perfúziót a szívmegállást követően, ami rövid távon a hipoxiás-iszkémiás károsodás súlyosbodásához vezethet. Másrészt a magasabb ADMA-szintek súlyosabb hipoxiás inzultusra vagy már meglévő endotél-diszfunkcióra utalhatnak. Normális esetben a plazma átlagos nitrogén-monoxid koncentrációjának akut hipoxiás expozíciót követően emelkednie kellene a keringő ADMA-szint csökkenésének következményeként. Ezzel szemben az elhunytaknál az ADMA-szint enyhe csökkenését figyeltük meg, míg a túlélőknél az értékek 24 órára enyhén növekedtek. Ez a megállapítás arra utal, hogy a szívmegállást követő első napon megfigyelt ADMA koncentrációcsökkenés a 30 napon belül elhunyt betegek súlyosabb csoportjában adaptív mechanizmus lehet, amely feltehetően az ADMA-többlet korlátozásával az agyi hipoperfúzió ellensúlyozására tett kísérlet. A nitrogén-monoxid forrását jelentő L-arginin hiánya a hipoxiás inzultus által kiváltott súlyosabb oxidatív stresszhez vezethet, ami magyarázhatja, hogy a kórházi szívmegállást elszenvedő betegek alcsoportjában a csökkent kezdeti L-arginin/ADMA arány mortalitásra hajlamosít az intenzív osztályon való tartózkodás során. Egy nemrégiben közölt tanulmányban a magasabb arginin értékek és az alacsonyabb arginin/ADMA arány összefüggést mutatott a kórházon kívül történt szívmegállás utáni

halálalozással, míg az ADMA változások nem voltak szembetűnők. A mi vizsgálati populációnkban azonban eltérő lehet a poszt-reszuszcitációs ellátás során a mortalitásért felelős patofiziológiai háttér és kiváltó tényező, hiszen populációnk nem szelektált, főként kórházban újraélesztett betegekből áll, akiknél a hipoxiás agykárosodás helyett inkább a többszervi elégtelenség felelős az elhalálzásért.

6.3. Sejthalál markerek: citokeratinok és NSE

Legjobb tudomásunk szerint a CK-18 és hasított formájának plazmakoncentrációját még egyáltalán nem vizsgálták újraélesztést elszenvedő betegek körében. Az újraélesztést követő első három napon a teljes sejthalált tükröző CK-18 szintek tartósan emelkedtek, míg a CCCK-18/CK-18 arány alacsonyabb volt más tanulmányok populációinak értékeivel összehasonlítva, ami dominánsan nekrosis okozta nagymértékű sejthalálra enged következtetni. Várakozásainkkal ellentétben a túlélés nem volt összefüggésben a CK-18, a CCCK-18 koncentrációjával vagy a CCCK-18/CK-18 aránnyal vagy változásukkal. A szívmeállítás és újraélesztés jellemzői vagy a szervi elégtelenségek jelenléte szerint elemezve a markerek szintjében nem találtunk releváns összefüggéseket, kivéve a veseelégtelenségben megemelkedett CK-18 szintet, amely megfigyelés főként a károsodott veseelimináció, kisebb mértékben a sérült vesehámsejtekből történő fokozott felszabadulás következménye. A fenti negatív eredmények alapján arra a konklúzióra jutottunk, hogy a mortalitást kritikus funkciójú sejtek kisebb csoportjának károsodása határozhatja meg, de ezen sejtek pusztulásának jele eltűnhet a teljes sejthalál tömegében és vizsgált markereinkkel nem különíthető el. A túlélés inkább a megmaradó funkcionális kapacitástól és a regenerálódási képességtől függhet, nem pedig az összesített sejtkárosodás mértékétől.

A citokeratinok főként a hámsejtekben expresszálódnak, viszont neuronokban az intermedier filamentumok neurofilamentumokból épülnek fel, így a citokeratinok perifériás vérben detektálható mennyisége nem specifikus az idegsejtek pusztulására, és feltehetően emiatt a markerkoncentrációk a neurológiai állapottól függetlenek mutatkoztak. Következésképpen az idegsejtkárosodásra sokkal érzékenyebb NSE szintjét vizsgáltuk, amely a szakirodalomban az újraélesztettek kedvezőtlen neurológiai állapotának prognosztikai markereként ismert. Azonban várakozásainkkal ellentétben a mi vizsgálati populációnkban nem tudtuk megerősíteni az NSE mortalitásra vagy a neurológiai kimenetelre vonatkozó prognosztikai értékét. Ennek magyarázata lehet a nem szelektált populációnk nagyfokú heterogenitása, amely többnyire kórházi újraélesztésen átesett pácienseket foglalt magába, ahol az NSE kevésbé pontos a számos zavaró tényező és a hipoxiás-iszkémiás agykárosodástól független, egyéb okból bekövetkező mortalitás miatt. Továbbá a kórházon kívül elszenvedett szívmeállítások háttérben is rendkívül változatos etiológiai faktorokat azonosítottunk.

6.4. Laktát

A szívmeállítás során az elégtelen szöveti perfúzió miatt az anyagcsere anaerob módon valósul meg nagy mennyiségű laktát felszabadulását eredményezve, amely a szöveti hipoxia indikátoraként fogható fel és összefügg a mortalitással kritikus állapotú betegeknél. A laktát szerepét korábban már felvetették szívmeállást elszenvedő betegek túlélésének előrejelzésében. Eredményeink alátámasztották az emelkedett kezdeti laktát szint prognosztikai

szerepét a 30 napos halálozást ($>4,90$ mmol/l) és a rossz neurológiai kimenetelt ($>6,00$ mmol/l) illetően. Korábban hasonló határértékekről számoltak be, amiket összefüggésbe hoztak a szívmegeállást követően az intenzív osztályról való elbocsátáskor tapasztalt kimenetellel, emiatt a laktát - különösen a kórházi újraélesztés után - ígéretes prognosztikai faktor lehet. Eredményeink szerint a szívmegeállást követő 6 órán belül mért emelkedett laktát szintek segíthetnek a tartós vegetatív állapot vagy az agyhalál előrejelzésében.

6.5. SOFA, SAPS II, és biomarkerek

A SOFA és a SAPS reanimációt követő prognosztikai megbízhatósága kérdéses, ezért az elmúlt években jelentős erőfeszítéseket tettek kifejezetten az újraélesztett betegek kimenetelének becslésére szolgáló specifikusabb pontrendszerek kidolgozására. Ezek ígéretesek ugyan, de nem olyan széles körben elterjedtek, mint a klasszikus prognosztikai pontrendszerek, és gyakran igényelnek a betegről vagy a szívmegeállás körülményeiről hiányzó háttérinformációkat. Végeredményképpen vizsgálatunkban a hagyományosan használt SOFA és SAPS II pontrendszereket választottuk végpontként. A szeptikus és kritikus állapotú betegek körében végzett korábbi kutatási eredményekkel összhangban megerősítettük a pontszámok L-arginin útvonal molekuláinak szintjével mutatott összefüggését. Eredményeink alapján a SAPS II és a kezdeti ADMA prognosztikai pontossága a reanimációt követő 72 órás mortalitást illetően hasonló volt. Arra a következtetésre jutottunk, hogy a korai ADMA-szint meghatározása hasonlóan hatékony lehet a korai poszt-reszuszcitációs halálozás előrejelzésében, mint a SAPS II, amely egy időigényes értékelési módszer. Az újraélesztés utáni későbbi, 30 napos halálozás előrejelzésében a kezdeti laktátértékek hasonló mérsékelt prognosztikai értékkel rendelkeztek, mint a komplexebb SOFA vagy a SAPS II pontrendszerek. A 72 órás CK-18 értékek szignifikánsan korreláltak mind a SAPS II, mind a SOFA pontszámokkal, ami arra utal, hogy a szisztémás sejthalál mértéke kapcsolatban állhat az általános funkcionális kapacitással és az e pontszámokkal jellemzett szervfunkciós rendellenességekkel. Az általános kimenetel azonban nem befolyásolta a sejthalál markerek szintjét. Másrészt a CCK-18 a pontrendszerekkel nem mutatott összefüggést.

6.6. Erősségek, limitációk és jövőbeli perspektívák

Vizsgálatunk erőssége, hogy prospektívan, sorozatos mintavételezéssel értékeltük több hagyományos és új biomarker plazmakoncentrációját és kinetikáját nem szelektált újraélesztett betegek körében, hogy a szívmegeállás körülményeitől és kiváltó okától függetlenül megbízható prediktorokat azonosíthassunk. A legtöbb tanulmány a kórházon kívül reanimált egyének neuroprognosztikájára összpontosít, azonban kutatócsoportunk olyan ígéretes prognosztikai markereket azonosított, melyek nem szelektált, kórházon belül vagy azon kívül újraélesztett betegek esetében az általános kimenetelre vonatkozóan hordoznak információt. Annak ellenére, hogy a betegek az újraélesztés utáni ellátás során elfogadható neurológiai funkciót érnek el, később többszervi elégtelenség következtében meghalhatnak. Ezért a neurológiai funkciókat és az általános kimenetelt külön elemeztük, és az intenzív osztályon való tartózkodás során elért legjobb CPC-t rögzítettük. Tanulmányunk fő limitációja az alacsony elemszám. A magas halálozási arányt tekintve nem tudtunk elegendő adatot gyűjteni a hosszú távú elemzéshez. A vizsgálat egy centrumban zajlott, így a helyi kezelési stratégiák és irányelvek korlátozhatják eredményeink általánosíthatóságát.

Az L-arginin útvonal molekuláit értékelő hosszú távú, multicentrikus, nagyobb esetszámmal rendelkező vizsgálatokra volna szükség prognosztikai szerepük megerősítéséhez a szívmegállás utáni későbbi (pl. rehabilitációs) időszakban. Ez hozzájárulhatna a poszt-reszuszcitációs kórélettani folyamatok alaposabb megértéséhez és új terápiás megközelítések feltárásához. Az utóbbi időben egyre nagyobb érdeklődés mutatkozik az arginin-pótlás lehetséges terápiás hatásai iránt szív- és érrendszeri rendellenességek és kritikus állapotú betegek esetében. A külsőleg pótolta arginin vagy az argináz enzim szuppressziója javíthatja a nitrogén-monoxid termelését az intracelluláris L-arginin biológiai hozzáférhetőségének optimalizálásával és az arginin/ADMA arány kiegyensúlyozásával. Az emelkedett ADMA-szintek és a megnövekedett ADMA/arginin arány segíthet kiválasztani azokat az egyéneket, akik számára előnyös lehet a külsőleg pótolta arginin.

II. ANYAI HEMORHEOLÓGIAI TULAJDONSÁGOK KORAI PREEKLAMPSZIÁBAN

7. Bevezetés

A preeklampszia az anyai és perinatális morbiditás és mortalitás egyik vezető oka, amely világszerte a terhességek 5-7%-át érinti, és évente több mint 70 000 anyai és 500 000 magzati halálesetért felelős. A betegség korábban normotenzív nőknél fellépő terhességi hipertóniaként definiálható, mely a várandósság 20. hetében vagy azt követően újonnan jelentkező fehérjeürítéssel és/vagy anyai szervi és/vagy uteroplacentáris diszfunkcióval társul. A korai kezdetű preeklampszia a 34. terhességi hét előtt alakul ki, és a késői kezdetű formához (≥ 34 . hét) képest magasabb anyai és magzati morbiditási és halálozási kockázatot jelent.

A korai preeklampszia hátterében a méhlepény korai fejlődésének hibája valószínűsíthető, de a pontos kiváltó patofiziológiai folyamatok még mindig vita tárgyát képezik. Feltételezhető, hogy az első trimeszterben a méhlepény spirális artériáiba való citotrofoblaszt invázió károsodik, amely az érrendszer rendellenes, rezisztens erekkel és emelkedett nyomással jellemezhető átalakulását eredményezi. A méhlepény hipoxiája gyulladáskeltő faktorok felszabadulásához vezet, amelyek hozzájárulhatnak a kóros szisztémás endoteliális működéshez, amelyet a kapillárisok fokozott átteresztőképessége, mikrovaszkuláris trombózisok és tartós hipertónia jellemez.

Rövid távon életveszélyes anyai szövődmények léphetnek fel, például a méhlepény leválása, akut tüdőödéma, légzési distressz szindróma, akut veseelégtelenség, sztrók, eklampsziás roham, többszervi elégtelenség vagy disszeminált intravaszkuláris koaguláció. Az anyai halálozás hátterében legtöbbször a súlyos magas vérnyomás következtében kialakuló agyvérzés áll. A preeklampsziával küzdő nők később fogékonyabbá válnak a szív- és érrendszeri betegségekre, és hosszú távon fokozott a szívinfarktus, a szívelégtelenség, a magas vérnyomás vagy a sztrók kockázata. A magzat szempontjából is súlyos szövődmények léphetnek fel, mivel a méhlepény nem képes megfelelő perfúziót biztosítani, ami koraszülöttséghez, méhen belüli növekedési elmaradáshoz vagy magzati halálhoz vezet. A koraszülöttség önmagában súlyos szövődményekhez vezethet mind a perinatális időszakban, mind pedig a későbbi gyermekkorban, következésképpen további élete során végig kihat az újszülött egészségére. A koraszüléssel társulhat többek között csecsemőkori légzési distressz szindróma, intraventrikuláris vérzés, szepszis, bronchopulmonális diszplázia és idegrendszeri fejlődési zavarok a későbbi gyermekkorban.

7.1. Preeklampszia és hemoreológia

A hemoreológia a vér áramlási viszonyait, sejtes és plazmatikus komponenseinek fizikai tulajdonságait vizsgálja, mely tényezők romlása a mikrocirkuláció és a szöveti perfúzió károsodásához vezet. A vörösvérsejt (vvs) aggregáció során alacsony áramlási körülmények között a sejtek pénztekercshez hasonló aggregátumokba rendeződnek. Ennek növekedése fokozza a folyadékmezék közötti súrlódást, rontja a vér viszkozitását, így hátrányosan befolyásolja a makro-, és mikrocirkulációt egyaránt. Az eritrociták deformálhatósága lehetővé teszi, hogy mechanikai erők hatására alakjuk megváltoztatásával megkönnyítsék a szűk

kapillárisokon való átjutást a szövetek megfelelő oxigénellátásának biztosítása érdekében. A rigid, csökkent deformabilitású vvs-ek képtelenek alkalmazkodni a nyíróerőkhöz, így különösen nagyobb nyírófeszültségek alkalmazása esetén magasabb viszkozitási értékeket eredményeznek. A megnövekedett vvs-aggregáció és a csökkent deformálhatóság ronthatja a szöveti perfúziót.

A vér reológiájának kóros változásait és az uteroplacentáris felületen a véráramlás károsodását a preeklampszia lehetséges kiváltó okaként vagy következményeként említették korábbi vizsgálatokban. Megnövekedett vvs-aggregációról és csökkent deformabilitásról számoltak be, továbbá felvetésre került a méhen belüli növekedés-visszamaradással való összefüggésük. Mások azonban nem tudták megerősíteni a vvs-ek tulajdonságainak megváltozását preeklampsziában. A korai típus szülés körüli és azt követő időszakában tapasztalható reológiai tulajdonságokról korlátozott információk állnak rendelkezésre, mivel az eddig közölt tanulmányok általában nem tettek különbséget a korai és késői típus között, bár napjainkban már egyre inkább elfogadott tény, hogy a két forma kórélettani háttere eltér. Ezért további vizsgálatokra van szükség e paraméterek patofiziológiai és prognosztikai jelentőségének feltárására, különösen a korai típusban, amely súlyosabb rövid és hosszú távú anyai és magzati következményekkel jár.

8. Hipotézis és célkitűzések

Vizsgálatunkkal kívánjuk kiegészíteni a korai típusú preeklampsziában szenvedő édesanyák hemoreológiai tulajdonságairól eddig rendelkezésre álló ismereteket ismételt mintavételezéssel a diagnózistól a szülésen át, a posztpartum 72 óráig, egészséges várandósok mintáival összevetve. Szándékunkban állt egy vagy több reológiai paramétert azonosítani, amelyek a jelenlegi diagnosztikai és szűrési módszerhez további információkat nyújtanak. Másodlagos célkitűzéseink között szerepel az anyai vvs-ek tulajdonságai és a terhesség kimenetelének egyes jellemzői közötti kapcsolat feltárása.

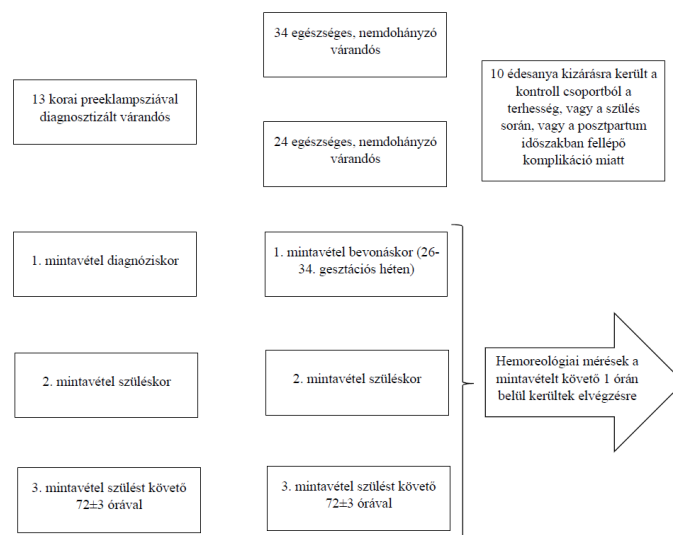
9. Anyag és módszer

13 nemdohányzó várandós nőt vontunk be prospektívan eset-kontroll vizsgálatunkba a Pécsi Tudományegyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján, akiknél korai kezdetű preeklampsziát diagnosztizáltak az *International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy* kritériumai alapján. A kontrollcsoportot 24 egészséges, nemdohányzó, életkorban és terhességi korban illesztett várandós nő alkotta. Az első fázisban 34 egészséges édesanyát vontunk be a kontrollcsoportba, akiknél a terhesség a bevonás időpontjáig komplikációktól mentesen zajlott. Végül 10 várandós került kizárára peripartum komplikációk miatt (8. ábra). Mindkét csoportban kizáró kritérium volt az ikerterhesség, a magzat méhen belüli fejlődési rendellenessége, méhen belüli fertőzés, súlyos anyai vérszegénység, más vizsgálatban való részvétel, valamint az aláírt beleegyező nyilatkozat hiánya. A vizsgálati protokollt a Pécsi Tudományegyetem Helyi Kutatás Etikai Bizottsága hagyta jóvá (6942 – PTE 2018), és megfelel az 1975-ös Helsinkai Nyilatkozat etikai irányelveinek.

Feljegyzésre kerültek az anamnesztikus adatok, a társbetegségek, a tünetek, a terhességi kor a szüléskor és a laboratóriumi paraméterek (elektrolitok, a vese- és májfunkció markerei,

gyulladásos paraméterek, teljes vérkép) a preeklampszia diagnózisának felállításakor és a szülést követő 72 órán belül. Ezenkívül az édesanyák fizikális adatait is rögzítettük felvételkor (testmagasság, testsúly, testtömegindex, pulzusszám, szisztolés és diasztolés vérnyomás, artériás középnyomás). Az újszülöttek fizikális paramétereit (születési súly, hossz, fejkörfogat, vállszélesség) és a közvetlenül a szülés után (Apgar 1) és 5 perccel később (Apgar 5) meghatározott Apgar-pontszámot is dokumentáltuk.

A betegcsoportban az első vérvételt a diagnózis felállításakor, a kontrollcsoportban a bevonáskor (26-34. terhességi hét) végeztük, amely eredményeket a későbbiekben "kezdeti" értékeként tárgyaljuk. Mindkét csoportban további két alkalommal vettünk vérmintát, a szülést követő 1 órán belül és 72 ± 3 órával később. Minden alkalommal 2×6 ml perifériás vért gyűjtöttünk az antecubitális vénákból EDTA-Vacutainer csövekbe. A hemoreológiai méréseket a vérvételt követő egy órán belül a Pécsi Tudományegyetem Hemoreológiai Kutatólaboratóriumában végezte ugyanaz a vizsgáló személy, standardizált körülmények között. A 8. ábra a bevonás és az adatgyűjtés folyamatát foglalja össze.



8. ábra. A preeklampsziával diagnosztizált és az egészséges kontroll várandósok bevonásának és adatgyűjtésének folyamata

9.1. Hemoreológiai mérések

A **vvs-aggregációt** két különböző módszerrel határoztuk meg. A **Myrenne aggregométer** (modell MA-1, Myrenne GmbH, Roetgen, Németország) egy átlátszó lemez és egy kúp alkalmazásával méri az infravörös fény áteresztését a vvs-aggregátumok közötti plazmareseken keresztül. A rendszer a befecskendezett 30 µl vérmintát nagy nyírófeszültség mellett forgatja, felosztatva az összes már kialakult sejtaggregátumot, majd azonnal leáll (M mód) vagy csökkentett nyírófeszültséggel működik tovább (M1 mód) az aggregáció serkentése érdekében, és méri a növekvő fényáteresztést, amely arányos a vvs aggregátumképződés sebességével statikus helyzetben (M index) vagy alacsony nyíróerő (M1 index) esetén. A két dimenzió nélküli index (M, M1) a fokozott vvs-aggregációval együtt nő. A **lézer-asszisztált optikai rotációs sejtanalizátor (LORCA - R&R Mechatronics, Hoorn, Hollandia)** a vvs aggregátumokról történő lézerefény visszaverődésének detektálásával határozza meg az eritrocita aggregáció mértékét. A külső, forgó henger és a belső, statikus henger közé 1 ml

vérminta befecskendezését követően nagy nyírási sebességgel történik a vvs-ek szétválasztása. A visszavert fény intenzitását a motor gyors leállítása után a rendszer 120 másodpercig méri. Az aggregációs index (AI), az aggregációs felezési idő ($t_{1/2}$ – a maximális aggregáció felének eléréséhez szükséges idő) és a küszöb nyírási sebességgrádiens (γ – a vvs-ek teljes szétválasztásához szükséges legkisebb nyírási sebesség) paraméterek kerülnek kiszámításra. A LORCA alkalmas az **eritrociták deformabilitásának** különböző nyírófeszültségeken történő mérésére is, amihez 20 μ l vérmintát vizzkózus közegben hígítottunk és a hengerek közé fecskendeztük. Mérés közben egy lézerdíoda vetül a folyadékra keresztül, a fény az vvs-eken megtörik, ami a membránon diffrakciós mintázatot eredményez, amit egy videokamera és egy számítógépes rendszer elemel. Az alkalmazott növekvő nyírófeszültségek hatására a vvs-ek megnyúlnak, a diffrakciós mintázat kör alakúról elliptikusra változik. A deformabilitás az egyes nyírófeszültségeknél megadott elongációs indexként (EI) fejezhető ki.

9.2. Statisztikai elemzés

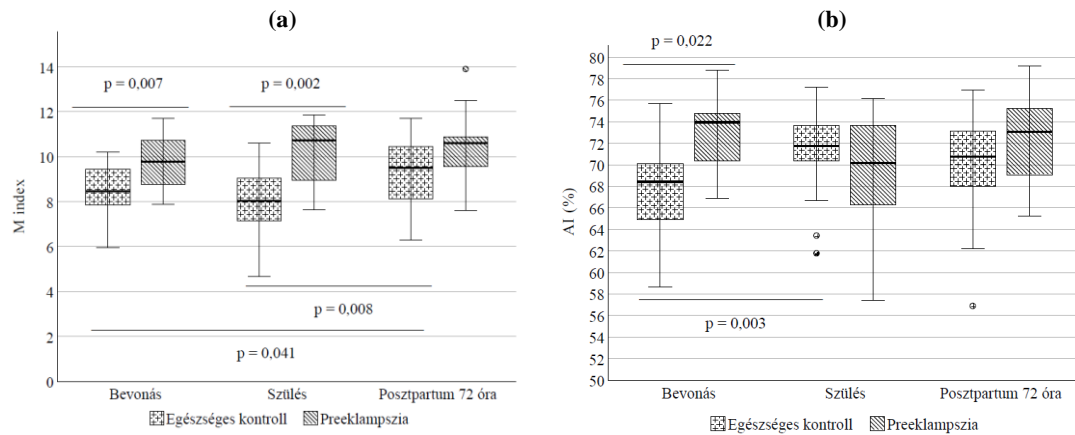
A statisztikai elemzést az IBM SPSS Statistics® 27.0 segítségével végeztük. A folytonos változókat átlag \pm standard eltérés vagy mediánok és interkvartilis tartományok formájában adtuk meg, a kategorikus változókat gyakorisági és százalékos megoszlásként közöltük. Kolmogorov-Smirnov-teszt segítségével állapítottuk meg az adatok normális eloszlását. Az adatelemzéshez Mann-Whitney U-tesztet, Student T-tesztet és Chi-négyzet tesztet alkalmaztunk. A korrelációelemzést Spearman korrelációs együtthatójának (ρ) kiszámításával végeztük. A változóink diagnosztikus erejét a ROC analízist követően a görbék AUC értékeivel fejeztük ki. A bináris logisztikus regressziós elemzéssel előállított előre jelzett valószínűségeket a kezdeti AI és M változók kombinációjából számítottuk ki.

10. Eredmények

A preeklampsziás csoportban a maximálisan mért szisztolés és diasztolés vérnyomás átlagértéke 180 ± 18 Hgmm és 112 ± 13 Hgmm volt és náluk a várakozásoknak megfelelően szignifikánsan magasabb volt a koraszülések aránya és alacsony születési súlyú, hosszúságú, fejkörfogatú és válszélességű csecsemők, valamint kedvezőtlenebb Apgar 1-es és 5-ös értékek előfordulását figyeltük meg (9. táblázat a teljes Ph.D értekezésben).

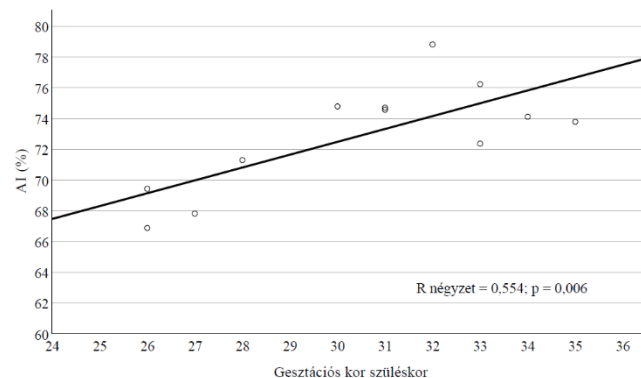
Szignifikánsan emelkedett vörösvérsejtszámot ($4,29 \pm 0,12$ vs. $3,91 \pm 0,05$ G/L; $p=0,009$), és hemoglobint ($126,58 \pm 2,60$ vs. $117,91 \pm 1,38$ g/l; $p=0,003$), valamint szignifikánsan alacsonyabb átlagos korpuszkuláris térfogatot (MCV) ($84,71 \pm 2,85$ vs. $87,86 \pm 4,56$ fl; $p=0,037$) tapasztaltunk a preeklampsia diagnózisakor a kontrollokhöz képest (25-27. ábrák a teljes Ph.D értekezésben).

A vvs-aggregáció szignifikánsan emelkedett volt a diagnózis felállításakor (M: $9,8 \pm 0,4$ vs. $8,5 \pm 0,2$; $p=0,007$) és szüléskor preeklampsziában (M: $10,7 \pm 0,8$ vs. $8,0 \pm 0,4$; $p=0,002$). Egészséges várandósoknál az M index a szülést követő 72 órára emelkedett a bevonáskor vagy szüléskor mért értékekhez képest, mely változás nem alakult ki preeklampsziás nőknél, ahol az M értékek folyamatosan magasak maradtak (9. a. ábra).



9. ábra a-b: Vvs-aggregáció a preeklampsziás és a kontrollcsoportban a három vizsgált időpontban

A vvs-aggregáció a preeklampsia diagnózisakor fokozottabb volt a kontrollcsoport értékeihez viszonyítva (AI: $72,9 \pm 3,5\%$ vs. $67,5 \pm 3,9\%$; $p < 0,001$) (9. b. ábra). Az egészséges várandósok paramétereit vizsgálva szignifikánsan megnövekedett vvs-aggregációt mutattunk ki a bevonáskor történő első vérvételtől a szülés időpontjáig (AI: $67,5 \pm 0,8\%$ vs. $71,1 \pm 1,0\%$ $p=0,003$), míg ez az emelkedés preeklampsziában elmaradt. A preeklampsziás csoportban szignifikáns lineáris pozitív összefüggést figyeltünk meg a diagnózis felállításakor mért kezdeti AI értékek és az újszülött gesztációs kora között ($R^2=0,554$; $p=0,006$) (10. ábra).

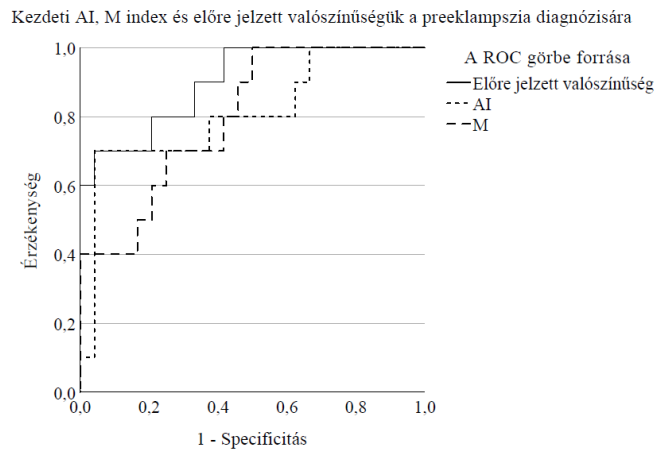


10. ábra: A preeklampszia diagnózisakor mért AI és a születéskori gesztációs kor lineáris regresszióanalízise

A preeklampszia diagnózisakor szignifikánsan csökkent vvs-deformabilitást észleltünk közepes nyírófeszültségeknél ($EI_{9,49Pa}=0,554$ vs. $0,559$; $EI_{5,33Pa}=0,496$ vs. $0,504$; $EI_{3Pa}=0,421$ vs. $0,430$; $p < 0,05$) az egészséges várandósok bevonáskor nyert értékeihez képest. A csoporton belüli változásokat elemezve megfigyeltük, hogy preeklampsziában a szülés után 72 órára javult a vvs-ek deformálhatósága a diagnózisakor vagy a szüléskor mért értékekhez hasonlítva, amely kinetika az egészséges terhesek csoportjában nem volt megállapítható (10-11. táblázat a teljes Ph.D. értekezésben).

ROC analízist végeztünk az első vizsgált időpontban mért anyai aggregációs paraméterekkel, hogy teszteljük diagnosztikus erejüket. A preeklampszia diagnózisára a kezdeti AI esetében a $69,4\%$ -ot határoztuk meg legoptimálisabb határértékként, $0,837$ [$0,684 - 0,990$] AUC értékkel ($p=0,001$) (érzékenység: $83,3\%$; specificitás: $62,5\%$). A kezdeti M értékek ROC analízise $0,750$ [$0,576 - 0,924$] ($p=0,019$) AUC értéket mutatott, és a $8,39$ -es határérték bizonyult a legmegfelelőbbnek a preeklampszia diagnózisára (érzékenység: $90,9\%$; specificitás: 50%). A bináris logisztikus regresszióanalízissel előállított, a kezdeti AI és M

változók kombinációjából származó előre jelzett valószínűségek kissé kedvezőbb AUC-t mutattak, 0,900 ([0,789 – 1,000] $p < 0,001$) értékkel, összehasonlítva az AI vagy az M önállóan mért AUC értékeivel (11. ábra).



11. ábra. ROC görbe a preeklampszia diagnózisára, amely a kezdeti AI és M értékeket önállóan, valamint ezek kombinációját, előre jelzett valószínűségként kifejezve foglalja magában

11. Megbeszélés

11.1. Az eredmények összefoglalása

Kutatási eredményeinkkel kívánjuk hangsúlyozni és megerősíteni az anyai hemoreológiai tulajdonságok mikrocirkulációt befolyásoló patofiziológiai folyamatokban betöltött szerepét korai típusú preeklampsziában. Vizsgálataink elsősorban a vvs-ek tulajdonságainak, aggregációs és elongációs készségük szülés körüli időszakot érintő változásaira összpontosítottak. Kutatásunk legjelentősebb eredménye, hogy a fokozott vvs-aggregációt tükröző emelkedett AI és M index önmagában és együttesen is magas érzékenységgű és elfogadható specificitású diagnosztikus képességgel rendelkezik. Preeklampszia esetén pozitív lineáris kapcsolatot figyeltünk meg az anyai AI és a szüléskori gesztációs kor között, amely összefüggés az egészséges terhességben nem mutatkozott. A preeklampszia diagnózisakor nyert mintákban jelentősen csökkent kezdeti EI értékeket figyeltünk meg közepes nyírófeszültségeknél, ami az eritrociták csökkent deformálhatóságát tükrözi. Preeklampsziás édesanyáknál a vvs deformabilitás a szülés után három nappal javult a diagnózis felállításakor vagy a szülés során mért értékekhez képest.

11.2. Rutin, vörösvérsejtekre vonatkozó laboratóriumi paraméterek

Egészséges terhesség során a teljes vértérfogat, a plazmatérfogat és a vvs-ek tömege hétről-hétre egyre növekszik. Továbbá a plazmatérfogat a vvs-ek gyarapodásához képest arányaiban jelentősebb mértékben emelkedik fiziológiás hemodilúciót eredményezve, amit alacsonyabb hemoglobin koncentráció jellemez. Ezzel szemben korai preeklampsziában kissé emelkedett vvs számot és hemoglobinértékeket figyeltünk meg korábbi tanulmányok eredményeivel egybehangzóan. A preeklampsziás csoportunkban a kezdeti MCV enyhén alacsonyabb a kontrollcsoport értékeihez képest, ellentétben a korábbi vizsgálatokkal, ahol preeklampszia esetén szignifikánsan megnövekedett MCV-ről számoltak be. Fontos azonban megjegyezni, hogy az említett vizsgálatokban az átlagos gesztációs kor mindkét csoportban

magasabb volt, mint a mi vizsgálatunkban. Egy nemrégiben megjelent, az eritrociták ozmotikus és mechanikai stabilitását elemző publikáció szerint a kisebb térfogatú és alacsonyabb hemoglobintartalmú eritrociták ozmotikusan stabilabbak. Feltételezték, hogy az alacsonyabb MCV értékek a kompenzációs mechanikai szelekció mechanizmusára vezethetők vissza, ami preeklampsziában előnyös lehet. Az MCV optimális tartománya azonban a preeklampsziával szövődött terhességek során továbbra sem egyértelmű.

11.3. Eritrocita aggregáció

Eredményeink szerint az emelkedett kezdeti anyai AI és M értékek bizonyultak a korai preeklampszia legígéretesebb indikátorainak, magas érzékenységgel és elfogadható specificitással. Ráadásul a kombinációjukkal kedvezőbb AUC értéket kaptunk, mint önálló elemzésükkel. A preeklampszia diagnózisakor a kontrollokhoz képest fokozott vvs-aggregáció a korai preeklampsziában fennálló károsodott mikrocirkulációra utal. Ezt az AI és a születés kori gesztációs kor közötti kapcsolat is alátámasztja, mely arra enged következtetni, hogy minél tovább tart a patológiás terhesség, annál fokozottabbá válik az anyai vvs-ek aggregációja, amit az emelkedő AI értékek tükröznek. Egészséges várandósokat illetően nem figyeltünk meg szignifikáns kapcsolatot az AI érték és a bevonáskor regisztrált terhességi kor között. Tehát egészséges terheseknél a gesztációs kor önmagában nem befolyásolta az AI értékeket, ez az összefüggés kizárólag preeklampsziában jelent meg. Megjegyzendő, hogy a kezdeti AI értékek mindkét csoportban függetlenek voltak a hemoglobinértékektől, így azok nem befolyásolták a mérési eredményeinket. A csoportokon belüli változásokat elemezve megállapíthatjuk, hogy egészséges terhességben a szülés utáni első 72 órában növekedett a vvs-aggregáció. Ezzel szemben preeklampsziában folyamatosan magas aggregációs értékeket figyeltünk meg, amelyek nem változtak jelentősen a három vizsgált időpontban. Az emelkedett vvs-aggregáció egyrészt a plazmafehérjék koncentrációváltozásainak tulajdonítható, preeklampsziában pedig elsősorban a vvs membránjának változásai - például a csökkent szialsav tartalom, amely gyengíti a taszító erőket és a membrán konformációs változásait - állhatnak a fokozott aggregációs készség hátterében.

11.4. Eritrocita deformabilitás

A kezdeti EI értékek közepes nyírófeszültségeken alacsonyabbnak bizonyultak preeklampsziában, ami a vvs-ek károsodott deformálhatóságát tükrözi. Preeklampszia esetén a szülés utáni időszakban az elongációs készséget érintő viszonylag gyors javulás feltehetően a betegséget fenntartó patológiás terhesség megszűnése miatt következhet be. Ezért feltételezhető, hogy a vvs-ek deformálhatósága érzékeny és korai markere lehet az anyai mikrocirkuláció szülés utáni normalizálódásának. A vvs-ek károsodott deformálhatóságának oka preeklampsziában feltehetően a jelentős szabadgyök-felszabadulást kiváltó krónikus gyulladás és a hipoxia, ami a vvs-membrán tulajdonságainak megváltozását, és az intracelluláris Ca^{2+} szint emelkedését idézi elő. Ezen túlmenően a megnövekedett Ca^{2+} pumpa aktivitás a vvs-ekben adenzin-trifoszfát kimerüléséhez vezet, ami gyengíti deformabilitási képességüket.

11.5. Szakirodalmi kitekintés

A vvs-ek deformálhatóságával és aggregációjával kapcsolatos tanulmányok ellentmondásosnak tűnnek. Egyes szerzők csökkent eritrocita deformabilitásról és uteroplacentáris hipoperfúzióról számoltak be, amit preeklampsziában a vvs-ek membránjának károsodása kísért. Mások nem figyeltek meg jelentős változást az elongációs készségeket illetően. Preeklampsziában néhány korábbi publikációban fokozott vvs-aggregációt említettek, míg más szerzők nem figyeltek meg jelentős eltérést. Megfigyeléseinkkel összhangban L. Heilmann és munkatársai fokozott aggregációról és csökkent deformabilitásról számoltak be súlyos preeklampsziában, ami arra utal, hogy a hemoreológiai paraméterek fontos szerepet játszanak a méhlepény intervillózus terének mikrocirkulációjában.

A preeklampsziában tapasztalható hemoreológiai változásokkal foglalkozó legtöbb tanulmány több, mint 2-3 évtizeddel ezelőtt került közlésre. Szükség van azonban ezen eredmények korszerű újraértékelésére, hiszen a preeklampszia definíciói, a mérési módszerek és az eredmények értelmezése azóta megváltozhatott. Ezen túlmenően a korai típusú preeklampszia diagnosztikai kritériumait az utóbbi időkben szélesítették és pontosították. A korai és a késői megjelenésű forma elkülönítése egyre inkább elfogadott, mivel bizonyított, hogy eltérő patofiziológiai háttérrel és klinikai jellemzőkkel rendelkeznek, ezért célszerű teljesen külön kezelni őket. A korai kezdetű preeklampszia valószínűsíthetően a placentáció zavarából ered, míg a késői kezdetű forma hátterében az anya kardiovaszkuláris és metabolikus betegségekre való genetikai hajlama húzódhat meg. Ezért kívánatos lenne a két típust hemoreológiai szempontból is külön vizsgálni.

A vvs-ek aggregációját illetően a korábbi vizsgálatok többnyire Myrenne aggregométert alkalmaztak, míg a LORCA-val mért eredményekről csak néhány esetben számoltak be. Legjobb tudomásunk szerint az irodalomban nincs arra példa, hogy a mi vizsgálati kialakításunkhoz hasonlóan a két mérési módszert egyidejűleg értékelték volna korai preeklampsziában. Megfigyeléseink azt mutatják, hogy a kétféle mérési módszer hasonló eredményeket adott a vvs-aggregáció tekintetében, sőt, kombinációjuk a diagnosztikai jelentőségüket akár erősítheti is.

11.6. Szűrés

Az elmúlt évtizedben jelentős erőfeszítéseket fordítottak hatékony szűrési algoritmus kidolgozására annak érdekében, hogy a nagy kockázatú nőket azonosítani és szükség esetén acetilszalicilsav-profilaxisban részesíteni tudják. A jelenleg alkalmazott legideálisabb szűrési modell az első trimeszterben több anyai és magzati tényezőt és specifikus biomarkereket foglal magába, amelyek meghatározása olykor nehézkes, időigényes és költséges, valamint képzett szakemberek közreműködését igényli. Ezzel szemben mi olcsó, könnyen kivitelezhető módszereket alkalmaztunk, amelynek mutatói kvantitatívak, objektívek és más klinikai jellemzőktől függetlenül, vakon értékelhetőek. A műszerek beszerzését leszámítva a hemoreológiai vizsgálatok költségei minimálisak és könnyen elvégezhetőek. A fent részletezett mérések meglehetősen kis mennyiségű vérmintát igényelnek, és gyorsan elérhető eredményeket nyújtanak. Ezért további vizsgálatok javasoltak annak feltárására, hogy a vvs-ek aggregációs és deformabilitási paraméterei, különösen az AI és M-értékek alkalmazhatóak-e a

preeklampszia korai szakaszában, a tünetek megjelenése előtt, mint a betegség kialakulására való fogékonyságot vagy kockázatot jelző biomarkerek. Ezen túlmenően megfontolandó a szűrési algoritmusba való beépítésük.

11.7. Erősségek, limitációk és jövőbeli perspektívák

Vizsgálatunk erőssége a prospektív, eset-kontroll elrendezés, amely ismételt vérvételek segítségével értékeli a vvs-ek tulajdonságait és azok változásait a szülés körüli időszakban. A két módszer együttes alkalmazása (Myrenne és LORCA) megbízhatóbb információt nyújt a vvs-ek aggregációs tulajdonságairól. Az alacsony elemszám, valamint az egy-centrumos felépítés a helyi terápiás stratégiák miatt korlátozhatja eredményeink általánosíthatóságát. A vvs-ek tulajdonságai segíthetnek a korai preeklampszia prognosztikájában, azonban további vizsgálatokra van szükség a tünetek megjelenése előtti alkalmazhatóság megerősítésére. Hosszú távú követés javasolt, nagyobb számú beteg bevonásával annak feltárására, hogy a szülés körüli hemoreológiai változások milyen szerepet játszhatnak a kardiovaszkuláris szövődmények későbbi kialakulásában. A köldökzsinórvér és az újszülöttek perifériás vérmintáinak hemoreológiai vizsgálata hozzájárulhat a magzati szövődmények előrejelzéséhez.

12. Az új eredmények összefoglalása

12.1. Újraélesztést követő prognosztika új és hagyományos biomarkerekkel

- A kezdeti ADMA független prediktora az újraélesztést követően 3 napon belül bekövetkező korai halálozásnak.
- Az újraélesztés utáni ellátás során tapasztalt tartós vegetatív állapothoz vagy agyhalálhoz emelkedett ADMA-szintek társulnak.
- Szignifikáns pozitív korreláció mutatkozott a kezdeti ADMA és a SAPS II pontszámok között.
- A CK-18, a CCK-18 és az NSE koncentrációk nem hozhatók összefüggésbe szív megállást követően a túléléssel vagy a neurológiai kimenetellel nem szelektált újraélesztett betegek esetében.
- A CK-18 szintek tartósan magasnak, míg a CCK-18/CK-18 arány alacsonynak bizonyult az újraélesztést követő első három napon, ami nagymértékű, dominánsan nekrozis által megvalósuló sejthalálra utal.
- A 72 órás CK-18 szint szignifikáns korrelációt mutatott a SAPS II és SOFA pontszámokkal.
- A kezdeti laktát-szint jó prediktora a 30 napos mortalitásnak és a kedvezőtlen neurológiai kimenetelnek, valamint önmagában hasonlóan hasznos információt nyújt, mint a SAPS II vagy a SOFA pontszámok.

12.2. Anyai hemoreológiai tulajdonságok korai preeklampsziában

- Az anyai vérminták vizsgálata során tapasztalt fokozott eritrocita aggregációt tükröző emelkedett AI és M index bizonyult a korai preeklampszia legígéretesebb, magas szenzitivitású indikátorának.

- Preeklampszia esetén szignifikáns pozitív lineáris kapcsolatot detektáltunk az anyai AI és a születéskori gesztációs kor között, amely összefüggés egészséges terhességben nem volt megfigyelhető.
- A preeklampszia diagnózisakor a normál terhességhez képest alacsonyabb EI értékeket figyeltünk meg jelezve a vvs-ek károsodott deformabilitását, ami a szülés utáni időszakban gyorsan javult a preeklampsziás csoportban.

13. Köszönetnyilvánítás és támogatás

Elsőként szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőimnek, *Kenyeres Péternek* és *Sándor Barbarának*, valamint programvezetőmnek, *Tóth Kálmán* Professzor Úrnak, hogy lehetőséget biztosítottak kutatásaim elindításához és megvalósításához, valamint folyamatosan támogatták és irányították doktori munkámat. Őszinte köszönetemet fejezem ki *Márton Zsoltnak*, *Molnár Tihamérnak* és *Bajnok László* Professzor Úrnak útmutatásukért és az újraélesztéssel kapcsolatos kutatást érintő szakmai tanácsaikért, akik folyamatosan motiváltak és támogattak a legreménytelenebb helyzetekben is, új perspektívák megvilágításával. Szeretném továbbá megköszönni az együttműködést, a szakmai tanácsokat, valamint a preeklampszia kutatással kapcsolatos mintavételben és értesítésekben nyújtott segítséget *Vida Gabriellának*, *Funke Simonének*, *Kaizer Melindának* és *Mészárosné Németh Etelkának* a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáról, akik nélkül a projekt nem valósulhatott volna meg. Továbbá hálás köszönettel tartozom a preeklampszia kutatással kapcsolatos szakmai tanácsokért *Szereday Lászlónak* és *Meggyes Mátyásnak* az Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézettől. Rendkívül hálás vagyok *Kőszegi Tamásnak* és *Györgyi Erzsébetnek* (Laboratóriumi Medicina Intézet), *Halmosi Róbert* Professzor Úrnak és *Deres Lászlónak* (I. sz. Belgyógyászati Klinika és Szentágothai Kutatóközpont), valamint *Nagy Lajosnak* (Debreceni Egyetem, Alkalmazott Kémiai Tanszék) és *Tapasztóné Fazekas Kornéliának* (I. sz. Belgyógyászati Klinika, Haemorheológiai Kutatólaboratórium) a laboratóriumi háttér biztosításáért, valamint a mérésekben és mintaelőkészítés során nyújtott segítségükért. Szeretném megemlíteni továbbá *Németh Álmos* és *Kevey Dóra Kinga*, a Tudományos Diákkör egykori hallgatóinak értékes munkáját, akik aktívan részt vettek kutatásunkban. Hálával tartozom a Pécsi Tudományegyetem I. sz. Belgyógyászati Klinika, az Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet, a Sürgősségi Orvostani Tanszék és a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika munkatársainak támogatását és együttműködését, valamint köszönet minden kollégának, aki hozzájárult a kutatások kivitelezéséhez. Ezenkívül szeretném kifejezni elismerésemet és tiszteletemet az újraélesztésen átesett páciensek és hozzátartozóik, valamint a várandós édesanyák felé a vizsgálatban való részvételükért. És végül, de nem utolsó sorban hálás vagyok családomnak, barátaimnak és kollégáimnak a folyamatos támogatásukért, akik nélkül a doktori disszertációm soha nem készült volna el.

A vizsgálatok költségeit főként a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kara fedezte. Ezen túlmenően a GINOP 2.3.2.-15-2016-00048 és a NKFIH magyarországi támogatásával a 2020-4.1.1-TKP2020 1. tematikus programjának keretében, valamint a Pécsi Tudományegyetem EFOP-3.6.3- VEKOP-16-2017-00009 programjának támogatásával valósultak meg.

14. Tudományos mérőszámok

Tudományos cikkek:

- Összes: 9
- Angol nyelvű publikációk: 7

Impakt faktor (MTMT2 alapján, frissítve 2021. augusztus 22-én):

- Első szerzős: 3.937
- Kumulatív: 23.809

Idézettség (MTMT2 alapján, frissítve 2021. augusztus 22-én):

- Független: 14
- Kumulatív: 18

Publikációs lista:

Az értekezés alapjául szolgáló első szerzős publikációk:

1. **Csiszar, Beata**; Marton, Zsolt; Riba, Janos; Csecsei, Peter; Nagy, Lajos; Toth, Kalman; Halmosi, Robert; Sandor, Barbara; Kenyeres, Peter (corresponding author); Molnar, Tihamer. L-Arginine, asymmetric and symmetric dimethylarginine for early outcome prediction in unselected cardiac arrest victims: a prospective cohort study. INTERNAL AND EMERGENCY MEDICINE (2021). Published: 03 June 2021; <https://doi.org/10.1007/s11739-021-02767-z> **Q1**; IF: 3.397 (2020) H-index: 47
2. **Csiszár, Beáta**; Németh, Álmos Márton, Zsolt; Riba, János; Csécsei, Péter; Molnár, Tihamér; Deres, László; Halmosi, Róbert; Tóth, Kálmán; Kenyeres, Péter. A citokeratin-18 sejthalálmarker vizsgálata sikeres cardiopulmonalis resuscitáció átesett betegpopulációban. ORVOSI HETILAP 161: 1 pp. 26-32., 7 p. (2020); **Q4**; IF: 0.540 (2020) H-index: 21

További publikációk:

1. Meggyes, Matyas; Nagy, David U.; Szigeti, Brigitta; **Csiszar, Beata**; Sandor, Barbara; Tamas, Peter; Szereday, Laszlo. Investigation of mucosal-associated invariant T (MAIT) cells expressing immune checkpoint receptors (TIGIT and CD226) in early-onset preeclampsia. EUROPEAN JOURNAL OF OBSTETRICS GYNECOLOGY AND REPRODUCTIVE BIOLOGY 252 pp. 373-381., 9 p. (2020)
2. Szakács, Zsolt; **Csiszár, Beáta**; Nagy, Mátyás; Farkas, Nelli; Kenyeres, Péter; Erős, Adrienn; Hussain, Alizadeh; Márta, Katalin; Szentesi, Andrea; Tőkés-Füzesi, Margit et al. Diet-dependent and diet-independent hemorheological alterations in celiac disease: A case-control study CLINICAL AND TRANSLATIONAL GASTROENTEROLOGY 11: 11 Paper: e00256, 11 p. (2020)
3. Meggyes, Matyas; Miko, Eva; Lajko, Adrienn; **Csiszar, Beata**; Sandor, Barbara; Matrai, Peter; Tamas, Peter; Szereday, Laszlo. Involvement of the PD-1/PD-L1 Co-Inhibitory Pathway in the Pathogenesis of the Inflammatory Stage of Early-Onset Preeclampsia. INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES 20 : 3 Paper: 583 , 11 p. (2019)
4. Szakács, Zsolt; **Csiszár, Beáta**; Kenyeres, Péter; Sarlós, Patrícia; Eröss, Bálint; Hussain, Alizadeh; Nagy, Ágnes; Kószegi, Balázs; Veczák, Ibolya; Farkas, Nelli et al. Haemorheological and haemostatic alterations in coeliac disease and inflammatory bowel disease in comparison with non-coeliac, non-IBD subjects (HERMES): a case-control study protocol. BMJ OPEN 9: 3 Paper: e026315, 8 p. (2019)
5. Biro, K; Sandor, B; Kovacs, D; **Csiszar, B**; Vekasi, J; Totsimon, K; Toth, A; Koltai, K; Endrei, D; Toth, K et al. Lower limb ischemia and microrheological alterations in patients with diabetic retinopathy. CLINICAL HEMORHEOLOGY AND MICROCIRCULATION 69: 1-2 pp. 23-35., 13 p. (2018)
6. Kovacs, David; **Csiszar, Beata**; Biro, Katalin; Koltai, Katalin; Endrei, Dora; Juricskay, Istvan; Sandor, Barbara; Praksch, Dora; Toth, Kalman; Kesmarky, Gabor. Toe-brachial index and exercise test can improve the exploration of peripheral artery disease. ATHEROSCLEROSIS 269 pp. 151-158., 8 p. (2018)
7. Koltai, K; Biró, K; Kovács, D; **Csiszár, B**; Tóth, K; Késmárky, G. A cilostazol hatásmechanizmusa és szerepe a perifériás verőérbetegség kezelésében. LEGE ARTIS MEDICINAE 25: 4-5 pp. 177-181., 5 p. (2015)

Az értékezés témájához kapcsolódó konferencia előadások:

1. **Beata Csiszar**, Gergely Galos, Peter Kenyeres, Kalman Toth, Barbara Sandor. Maternal hemorheological changes in early-onset preeclampsia. 2nd Joint Meeting of ESCHM-ISCH-ISB 2021, Fukuoka, Japan, online conference, July 4-7, 2021
2. **Beata Csiszar**, Gergely Galos, Simone Funke, Miklos Koppan, Matyas Meggyes, Laszlo Szereday, Peter Kenyeres, Kalman Toth, Barbara Sandor. Maternal hemorheological changes in early-onset preeclampsia. Magyar Haemorheologiai Társaság XXVII. Kongresszusa, online, 2021. április 23.
3. **Csiszár Beáta**, Márton Zsolt, Riba János, Csécei Péter, Molnár Tihamér, Deres László, Kőszegi Tamás, Tóth Kálmán, Halmosi Róbert, Kenyeres Péter. A cytokeratin-18 prognosztikus szerepének vizsgálata posztreszuszcitációs ellátás során. Magyar Kardiológusok Társasága 2020. évi Tudományos Kongresszusa online. 2020. november 11-14.
4. **Csiszar Beata**, Nemeth Almos, Marton Zsolt, Riba Janos, Csecsei Peter, Molnar Tihamer, Deres Laszlo, Toth Kalman, Kenyeres Peter. Prognostic value of systemic cell death biomarkers after successful cardiopulmonary resuscitation. RESUSCITATION 142: Suppl. 1 pp. e96-e97. Paper: AP162 (2019)
5. **Csiszár Beáta**, Németh Álmos, Márton Zsolt, Riba János, Csécei Péter, Molnár Tihamér, Deres László, Tóth Kálmán, Kenyeres Péter. A cytokeratin-18 szerepének vizsgálata sikeres cardiopulmonalis resuscitation átesett betegpopulációban. Magyar Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Társaság Nemzeti Kongresszusa MAITT továbbképző napok, Anesztexpo 2019. Hotel Azúr, Siófok 2019. május 23–25.
6. **Csiszár Beáta**, Kevey Dóra Kinga, Császár András, Vida Gabriella, Funke Simone, Szereday László, Meggyes Mátyás, Tóth Kálmán¹, Sándor Barbara. Preeclampsias édesanyák és újszülöttjeik hemoreológiai paramétereinek vizsgálata. Magyar Haemorheologiai Társaság XXVI. Kongresszusa. 2019. április 12-13. Pécs, Hotel Therapia.
7. **Csiszár Beáta**, Németh Álmos, Márton Zsolt, Csécei Péter, Molnár Tihamér, Tóth Kálmán, Kenyeres Péter. Apoptózis és nekrozis markerek vizsgálata sikeres cardiopulmonalis resuscitation átesett betegpopulációban. A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának LX. Vándorgyűlése és XX. Szekszárdi Kardiológiai Nap, 2019. március 28-30.

További konferencia előadások:

1. **Beata Csiszar**, Kinga Totsimon, Peter Kenyeres, Kalman Toth, Zsolt Marton. Hemorheological parameters and mortality in critically ill patients. Joint Conference of Three Societies: The European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation, The International Society of Clinical Hemorheology and The International Society of Biorheology (ESCHM-ISCH-ISB-2018) July 2-6, 2018 in Krakow, Poland.
2. **Csiszár, B**; Németh, Á; Riba, J; Márton, Zs; Tóth, K; Kenyeres, P: Miből lesz a tamponád – kezelés vagy kezeletlen betegség szövődménye? *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 48: Suppl. C pp. C 57-C 57., 1 p. (2018)
3. Késmárky, G; Kovács, D; **Csiszár, B**; Bíró, K; Koltai, K; Endrei, D; Tóth, K. Non-invazív módszerek és terheléses vizsgálatok szerepe az alsó végtagi panaszok differenciál diagnosztikájában. *ÉRBETEGSÉGEK/HUNGARIAN JOURNAL OF VASCULAR DISEASES* 24: 2 pp. 12-12., 1 p. (2017)
4. Kovács, D; **Csiszár, B**; Juricskay, I; Bíró, K; Koltai, K; Endrei, D; Praksch, D; Tóth, K; Késmárky, G: The role of exercise tests in the evaluation of vascular patients for lower limb ischemia. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 47: Suppl. p. n/a (2017)
5. Kovács, D; **Csiszár, B**; Juricskay, I; Bíró, K; Koltai, K; Endrei, D; Praksch, D; Tóth, K; Késmárky, G: Non-invazív módszerek és terheléses vizsgálatok szerepe perifériás ütőérbetegek végtag iszkémiájának diagnosztikájában. *ÉRBETEGSÉGEK/HUNGARIAN JOURNAL OF VASCULAR DISEASES* 24: 2 pp. 11-11., 1 p. (2017)
6. Kovács, D; **Csiszár, B**; Juricskay, I; Bíró, K; Koltai, K; Endrei, D; Praksch, D; Tóth, K; Késmárky, G. Terheléses vizsgálatok szerepe perifériás ütőérbetegek végtag-iszkémiájának diagnosztikájában. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 47 p. C129 (2017)

7. Biró, K; Kovács, D; **Csiszár, B**; Tótsimon, K; Sándor, B; Tóth, A; Koltai, K; Vékási, J; Tóth, K; Késmárky, G. Klaudikáló és nem klaudikáló diabéteszes betegek alsó végtagi keringésének vizsgálata. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 46: Suppl. F Paper: F89 (2016)
8. Késmárky, G; Kovács, D; **Csiszár, B**; Biró, K; Koltai, K; Endrei, D; Battyáni, I; Menyhei, G; Tóth, K. A noninvazív angiológiai vizsgálatok szerepe a döntéshozatalban perifériás ütőérbetegnél: esetismertetés. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 46: Suppl. F Paper: F67 (2016)
9. Kesmarky, G; Biro, K; Koltai, K; Kovacs, D; **Csiszar, B**; Kovacs, M; Totsimon, K; Sandor, B; Toth, A; Toth, K. Haemorheological and circulatory investigations in peripheral artery diseases. *ÉRBETEGSÉGEK/HUNGARIAN JOURNAL OF VASCULAR DISEASES* 22: Suppl. 1 pp. 52-52., 1 p. (2015)
10. Késmárky, G; Biró, K; Koltai, K; Kovács, D; **Csiszár, B**; Endrei, D; Tóth, K. Infúziós kezelés perifériás ütőérbetegségekben. *ÉRBETEGSÉGEK / HUNGARIAN JOURNAL OF VASCULAR DISEASES* 22: 2 pp. 53-53., 1 p. (2015)
11. Koltai, K; Biró, K; Kovács, D; **Csiszár, B**; Tóth, K; Késmárky, G. A transcutan parciális szöveti oxigéntenzio mérés és a lézer-doppler-áramlásmérés szerepe diabéteszes betegekben (8+2'). *MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM* 68: Suppl. 1 pp. 18-18., 1 p. (2015)
12. Kovacs, D; Biro, K; **Csiszar, B**; Totsimon, K; Sandor, B; Toth, A; Koltai, K; Vekasi, J; Toth, K; Kesmarky, G. Examination of lower limb tissue perfusion in diabetic patients with retinopathy. *ÉRBETEGSÉGEK / HUNGARIAN JOURNAL OF VASCULAR DISEASES* 22: Suppl. 1 pp. 35-35., 1 p. (2015)

Szerkesztői tevékenység:

1. **Csiszár, Beáta**; Hankó, Csilla; Kajos, Luca Fanni; Mező, Emerencia: Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences 2021: Book of Abstracts. Pécs, Hungary: Doctoral Student Association of the University of Pécs (2021), 124 p. ISBN: 9789634296539
2. **Csiszár, B**; Hankó, Cs; Kajos, L F; Kovács, O B; Mező, E; Szabó, R; Szabó-Guth, K: IX. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2020 Absztraktkötet: 9th Interdisciplinary Doctoral Conference 2020 Book of Abstracts. Pécs, Hungary: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat (2020), 384 p. ISBN: 9789634295822
3. **Csiszár, Beáta**; Hankó, Csilla; Kajos, Luca Fanni; Mező, Emerencia: IX. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2020 Tanulmánykötet; 9th Interdisciplinary Doctoral Conference 2020 Conference Book. Pécs, Magyarország: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat (2020), 595 p. ISBN: 9789634295839
4. **Csiszár, Beáta**; Hankó, Csilla; Kajos, Luca Fanni; Mező, Emerencia: Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences: Book of Abstracts. Pécs, Hungary: Doctoral Student Association of the University of Pécs (2020), 83 p. ISBN: 9789634295440
5. Bódog, Ferenc; **Csiszár, Beáta**: VIII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2019. Absztraktkötet; 8th Interdisciplinary Doctoral Conference 2019. Book of Abstracts. Pécs, Magyarország: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat (2019), 185 p. ISBN: 9789634293743
6. **Csiszár, Beáta**; Bódog, Ferenc: Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences: Book of abstracts. Pécs, Hungary: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat (2019), 87 p. ISBN: 9789634292913
7. **Csiszár, Beáta**; Bódog, Ferenc; Mező, Emerencia; Závodi, Bence: VIII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2019. Tanulmánykötet; 8th Interdisciplinary Doctoral Conference 2019. Conference Book. Pécs, Magyarország: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat (2019) , 327 p. ISBN: 9789634293729
8. Bódog, Ferenc; **Csiszár, Beáta**; Hayden, Zsófia; Kovács, Olivér; Rácz, Tamás. VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2018. Tanulmánykötet; 7th Interdisciplinary Doctoral Conference 2018. Conference Book. Pécs, Magyarország: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat (2018), 492 p. ISBN: 9789634292111
9. Bódog, Ferenc; **Csiszár, Beáta**; Pónusz, Róbert: Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences Book of Abstracts. Pécs, Magyarország: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat (2018) ISBN: 9789634292760

10. Bódog, Ferenc; **Csiszár, Beáta**; Hayden, Zsófia; Mészáros, Orsolya; Sapolov, Anatolij; Pónusz, Róbert. VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2018 Absztraktötet: Digitális, bővített kiadás; 7th Interdisciplinary Doctoral Conference 2018 Book of Abstracts: Digital, extended edition. Pécs, Magyarország: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat (2018), 207 p. ISBN: 9789634292098
11. Bódog, Ferenc; **Csiszár, Beáta**; Hegyi, Dávid; Pónusz, Róbert. DKK17-Doktoranduszok a Klinikai Kutatásokban Absztraktötet. Pécs, Magyarország: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat (2017), 89 p. ISBN: 9789634291602