

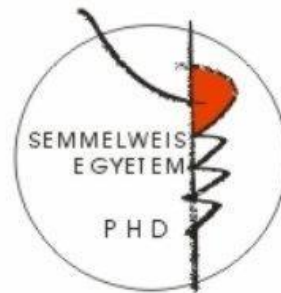
# Az aneuploidiák hátterének vizsgálata a petesejt mozaicizmus modell kapcsán

Doktori tézisek

**Dr. Babay Lilla Éva**

Semmelweis Egyetem

Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Nagy Gyula Richárd Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Tóth Zoltán, MTA doktora, egyetemi tanár

Dr. Terebessy András Ph.D., egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Szíjjártó Attila, D.Sc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Belics Zorán Ph.D., főorvos

Dr. Sobel Gábor Ph.D., egyetemi docens

Budapest

2020

## Bevezetés

Az aneuploidia a kromoszómaszám a szabályostól egy vagy több kromoszómával történő eltérését jelenti, ilyen lehet a triszómia ( $2n+1$ ), vagy a monoszómia ( $2n-1$ ). A kromoszómaszámok abnormalitásai létrejöhetnek meiotikus és mitotikus osztódás során egyaránt. A mitotikus non-diszjunkció szomatikus sejteket és gamétákat és érinthet, a legkorábbi embrionális sejtosztódásokra jellemző: az ilyen állapot mozaicizmust eredményez, ennek során egyes sejtek abnormális kromoszómaszámmal bírnak, míg más sejtek teljesen normálisak. A meiotikus non-diszjunkció csak gamétákat érint: itt meg kell különböztessünk első és második meiotikus osztódás során bekövetkezett kóros állapotot.

A gyakori triszómiák eredete az intenzív kutatások ellenére sem tisztázott egyértelműen, azonban a jelenleg széles körben elfogadott klasszikus eredetmodell szerint a meiotikus non-diszjunkció okozhatja a triszómiát egy eredetileg diszómiás petesejtben.

Újabb kutatások szerint azonban eltérő hatásmechanizmus állhat bizonyos aneuploidiák hátterében: Hultén és mtsai a petesejt mozaicizmus modell során bebizonyították a praemeiotikus mitotikus non-diszjunkció jelentőségét a 21-es triszómia kialakulásában.

Dolgozatomban a Patau szindrómát okozó 13-as triszómia lehetséges eredetére kerestem a megoldást, melynek alapját az ivarsejtek kóros fejlődése képezi.

Az oogenesis kezdetén a primordiális csírasejtek a nőnemű gonadba vándorolnak, azonnal oogoniumokká differenciálódnak, ahol számos mitotikus osztódáson mennek keresztül. A meiózis megkezdését követően a profázis I szakaszában a sejtosztódás leáll, az oogonium primer oocytává alakul és diplotén állapotában nyugalmi szakaszba kerül és az első meiotikus osztódásukat a pubertásig szünetelteti. Ennek hátterében az oocyta érési inhibitor (OMI) szerepel, mely a folliculus sejtek által termelt fehérje.

A pubertáskor kezdetén a növekvő folliculusok halmaza alakul ki, mely folyamatos utánpótlásban részesül a primordiális tüszőkből.

Minden ovarialis ciklusban több folliculus indul fejlődésnek, azonban az esetek legnagyobb részében csak egy éri el a teljes érettséget. Az érett folliculusban luteinizáló

hormon (LH) hatására a meiózis I befejeződik, ennek során két, összességében 46 kromoszómát tartalmazó leánysejt keletkezik: a szekunder oocyta és az első sarki test. A sejtek ezt követően belépnek a meiózis II fázisába, a folyamat azonban a metafázis során (az ovulációt közvetlenül megelőzve) blokkolódik. A meiózis II csak az oocyta megtermékenyítésekor fejeződik be, a végeredmény ekkor egy, 23 kromoszómát tartalmazó oocyta, és 3 sarki test lesz.

A nőkben a kromoszóma eltérések esélye és ezáltal az aneuploidiák előfordulása az életkorral növekszik (különösen 35 év felett): ez egy tapasztalati tény.

Az elméleti háttér igazolására számos hipotézis született, melyek közül egyik sem nyert egyértelmű bizonyítást.

2008-ban Hultén és munkacsoportja a Down-szindróma kialakulásának egészen eltérő magyarázatára derítettek fényt: véleményük szerint a kórkép háttere a petesejt mozaicizmusban keresendő, melynek oka a tradicionális dogmától jelentősen eltérő premeiotikus mitotikus non-diszjunkció: ez alapján az aneuploidiáért felelős hiba így már a premeiotikus mitozisban, a primitív csírasejtek nagy mennyiségű számtartó osztódása során létrejön, ezzel már egy eleve triszómiás petesejt kerül az oogenezis további fázisaiba és a meiózis során csupán „szükségszerű”, ún. szekunder-nondiszjunkció lép életbe.

Hultén és munkacsoportja az anyai életkor aneuploidiát fokozó hatására is szolgáltak magyarázattal: a 21-es triszómiás sejtek, összehasonlítva diszómiás társaikkal, érésükben lemaradnak, tehát a diszómiás petesejtek gyorsabban érnek meg és kerülnek ovulációra, ezért a számuk gyorsabban csökken, mint triszómiás társaiké. Ennek eredményeképpen arányaiban több triszómiás petesejt ragadhat a petefészekben az előrehaladott anyai életkorra, amely jelentős kockázatemelkedést jelenthet triszómiás terhesség kialakulására.

Az elméletet 14-22 hetes, fenotípusosan euploid lánymagzatok petefészkeinek vizsgálatával bizonyították: a post mortem eltávolításra került petefészkekből különféle érési fázisban lévő oocyta, mesenchymalis és primordiális csírasejt vizsgálatára alkalmas preparátumokat készítettek. A preparátumokat több napos immunhisztokémiai vizsgálatnak vetették alá, ennek során a meiózisba lépett és még a meiózis előtt álló sejtek szétválasztását végezték a meiózis specifikus STAG3 fehérjére specifikus

antitesztel. Az egymástól elválasztott sejteket ezt követően FISH vizsgálatnak vetették alá, ahol minden esetben találtak a diszómias petesejtek mellett triszómias petesejteket és primordiális csírasejteket is. A diszómias sejtek mellett átlagosan a sejtek 0,54%-a 21-es triszómias volt, ez az arány a STAG3 pozitív és STAG3 negatív sejtekben nagyságrendileg megegyezett: ebből arra következtethetünk, hogy már az egyedfejlődés kezdeti szakaszában is megjelenik bizonyos fokú aneuploidia a petesejtek között és ez a környezeti tényezőktől és egyéb hatásoktól független, különbség csak a triszómias és az egészséges sejtek fogyási ütemében van.

Néhányan megkérdőjelezték a petesejt mozaicizmus modell létjogosultságát: 2012-ben Morris és munkacsoportja nyolc, karyotipus alapján euploid, 10-14 hetes magzati petefészket vizsgált, ahol a kontroll mintához képest nem mutatkozott szignifikáns különbség a petesejtekben talált mozaicizmushoz képest (a sejtek mindössze 0,025 %-a bizonyult triszómiasnak). Az ellentétes eredmény okát az eltérő immunfluoreszcens és FISH módszertanon kívül a vizsgált magzatok alacsony gesztációs korában kereshetjük: az elmélet fontos eleme, hogy a triszómias sejtek az oogenezis részeként a praemeiotikus mitózisok során szaporodnak.

Tekintettel arra, hogy az elmélet eddig csak a 21-es triszómia esetén került bizonyításra, azonban rendkívüli jelentősége miatt fontosnak tartottam annak lehetséges kiterjesztését, fő célkitűzésemmé azt tettem, hogy alkalmazható-e a petesejt mozaicizmus modell, mint az aneuploidia eredete, más kromoszóma rendellenességek esetén is?

Az elméletet alkalmazhatóságát a Patau-szindrómát okozó 13-as triszómia esetében vizsgáltam meg, hiszen a kórkép klinikai jelentősége kiemelkedő, vizsgálhatósága pedig a nála gyakoribb aneuploidiáknál sokkal egyszerűbb, hiszen nem okoz olyan gyakran spontán magzati elhalást igen korai terhességi korban.

A megfelelő kromoszóma kiválasztását követően Hultén és munkatársai által megfogalmazott irányelvek alapján kezdtem meg a kutatómunkát.

## Célkitűzés

1. Magzati petefészkek gyűjtése a kutatásom szempontjából legmegfelelőbb, 16-23 hetes magzati korból származó, nem genetikai ok miatt történt spontán, vagy nem genetikai indokkal történt középidős vetélésindukción átesett leánymagzatoktól. A sikeresen begyűjtött minták segítségével a magzati petesejteket terveztük tanulmányozni.
2. A sikeresen begyűjtött mintákból a meiózis kezdeti szakaszát már megkezdő és a meiózisba még nem lépett, következtetésképpen praemeiotikus mitózisban lévő petesejtek egymástól történő szétválasztását szeretnénk volna kivitelezni.
3. A sikeresen különválasztott praemeiotikus összejtekben és meiózist megkezdett ivarsejtekben az általunk fent részletezett indokok miatt kiválasztott 13-as kromoszóma jelenlétét szeretnénk volna bizonyítani. A kromoszóma jelenlétének bizonyítását, majd a 13-as triszómiás sejtek kiválasztását követően, végül célunk azok pontos arányának meghatározása volt mindkét sejtcsoportban.
4. A fent részletezett célkitűzések sikeres teljesítését követően végső célunk az ovárium mozaicizmus modell létjogosultságának bizonyítása volt az eddig bizonyított 21-es triszómián kívül a 13-as triszómia esetén is.

## Módszerek

Kutatásom labormunkálatait 2013. január és 2015. október között végeztem a Semmelweis Egyetem I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikájának és a Semmelweis Egyetem I. sz. Patológiai és Kísérletes Rákkutató Intézetének együttműködésével.

Első számú célkitűzésemnek megfelelően kezdeti lépésem olyan lánymagzatok petefészkének begyűjtése volt, ahol a petesejtek már kellő számban vannak jelen, ezáltal megfelelően analizálhatók: a rendelkezésemre álló idő alatt hét, 16-23 hét közötti leánymagzat ováriumait tudtuk összegyűjteni és feldolgozni. A minták begyűjtése és feldolgozása a betegek szükséges tájékoztatást követő beleegyezésével és az Etikai Bizottság jóváhagyásával történt (4419/2013/EKU).

Kontroll minták céljából két normál karyotipusú személy vérvételét követően azok lymphocytá mintáját alkalmaztuk.

A minták elsődleges feldolgozását a Semmelweis Egyetem I. Sz, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikájának Fethopathológiai laboratóriumában végeztük. Ennek során a petefészkeket a vetélést követően pár órán belül eltávolítottuk, majd ún. „touch preparátumokat” készítettünk belőlük: ennek során a magzati ovariumra rámetsettünk, majd a felszínét vékonyan egy üveglapra nyomtuk, ennek során a sejteknek egy olyan vékony rétege jött létre, mely további immunreakció végzésére és analízisre is alkalmas volt.

Egy petefészekből a lehető legtöbb metszetet és touch preparátumot próbáltunk kinyerni, a petefészek mérete a lehetőségeink számát limitálta (bizonyos ováriumok esetén 4 darab, míg mások esetén csupán 1 darab tárgylemez készülhetett). A minták ezt követően sorszámot kaptak.

A további vizsgálatok elvégzése az I. sz. Patológiai Intézet Cytogenetikai Laboratóriumában történt: az előkészített petefészek mintákban a meiózist már megkezdett ivarsejteket különítettük el a mitózis állapotában lévő, másnéven praemeiotikus őssejtektől és stromasejtektől anti-STAG3 antitesttel (Sigma Aldrich Anti-STAG3 antibody produced in rabbit, Human Protein Atlas Number: HPA049106) történő immunreakcióval:

A STAG3 fehérje (stromal antigén 3 fehérje) a testvérkromatid kohéziót biztosító kohezin komplex REC-8 alegységének egyetlen meiózis specifikus tagja,

szerepe a testvérkromatidák együttmaradásának biztosítása az anafázis kezdetéig, ezáltal a STAG3 antitest pozitív sejtek bizonyíthatóan meiosisban vannak.

Labormunkálataim legkörülményesebb része a pontos antitest titer beállítása volt: a hónapokon át történő antitest titer beállítás során az immunreakciót megelőző előkezelést is módosítottuk, így tudtuk elérni a kellő jelintenzitás mellett a megfelelően kontrasztos hátteret.

Az általam kialakított immunhisztokémiai előkezelés a következőképpen zajlott:

Kezdeti lépésként a tárgylemezen lévő fehérjéket formalinnal fixáltuk (10 %-os neutrálisan bufferelt oldat a Sigma-Aldrich cégcsoporttól) egy 10 perces szobahőmérsékleten történő áztatással. Ezt követően 5 percig szobahőmérsékleten sodium citrát dihidrát segítségével történő áztatás következett a nem kívánatos szennyeződések eltávolítására. A kezdeti lépéseket követően háromszor 15 perces PBS (phosphate buffered saline) neutrális mosóoldattal történő tisztítás következett.

A tárgylemezeket 45 perces bovine sérum albumin 5 %-os PBS oldatában fixáltuk 45 perc alatt sötétkamrában +4°C-on. A megtisztított és előkezelt tárgylemezen ekkor megkezdődhetett a tényleges immunreakció első lépese: ennek során a már említett anti-STAG3 antitest 1 %-os, bovin szérum albumin/PBS oldatban történő hígítását a tárgylemezre felvittük, parafinos fedést biztosítottunk a kiszáradás elkerülésére és 12 órán keresztül sötétkamrában inkubáltuk. Az inkubációt követő háromszor 15 perces tisztítás után felvittük a másodlagos antitestet 2.5/400 ml bovin szérum albumin/PBS oldatban történő hígítási koncentrációban. Végül lépésként a szükséges háromszor 15 perces PBS mosást követően Vectashield, DAPI-t (4'6-diamidino-2-phenylindole) tartalmazó, a fluoreszcencia megőrzésére szolgáló oldatot hordtunk fel a metszlapunk felszínére.

lépések segítségével megvalósult a magzati ovariumból vett minták meiózis alapon történő minőségi elkülönítése: a STAG3 negatív sejtek homogén kék színnel, míg a STAG3 pozitív sejtek, kissé hálózatos, erős világoszöld színben tűntek fel.

A kontroll mintákon alkalmazott fent ismertetett immunhisztokémiai módszerrel STAG3 pozitív sejteket nem nyertünk.

Az immunhisztokémiai módszerekkel történő sejtcsoport elkülönítést követően került sor a 13-as kromoszóma megjelenítésére és számszerűsítésére, ennek sikeres

elvégzését követően pedig a 13-as triszómiás sejtek megszámlálására és azok pontos arányának megállapítására a STAG3 pozitív és STAG3 negatív sejtek esetén.

A kromoszómák megjelenítését és számszerűsítését FISH reakcióval végeztük (fluorescens in situ hibridisation). A FISH reakció során a DNS fragmentumokat fluoreszkáló festékekkel jelölünk meg, így fénymikroszkóppal nem látható kromoszóma részleteket is azonosíthatunk. A módszer érzékenysége kimagasló, akár 100 bázis méret alatti szekvenciák is kimutathatóak, egyszerre több DNS szekvencia analízise mellett.

Az I. Sz. Patológiai Intézet FISH laboratóriumának nagy gyakorlatával, jártasságával a szükséges FISH reakció kidolgozása nehézségek nélkül a következőképpen történt: Az immunhisztokémiai módszerrel előzetesen előkezelt mintákat metanol ecetsavval fixáltuk. A fixált mintákat kétszer standard citrátos sóoldattal öblítettük, majd a nem kívánatos, FISH reakciót torzító fluoreszcens anyagokkal bevont proteineket pepszinnel emésztettük. A 13-as kromoszóma hibridizációjához egy kromoszóma-végi próbát (Vysis LSI (13q14) Spectrum Green) és egy centroméra-közeli próbát (Vysis LSI (13q34) Spectrum Orange) alkalmaztunk a gyártó által javasolt módon. A FISH reakció végén a lemezeket Vectashield, DAPI-t (4'6-diamidino-2-phenylindole) tartalmazó oldattal fixáltuk.

A tárgylemezeken megjelenő fluoreszcens szignálok az Intézetben rendelkezésre álló Nikon Eclipse E600 fluoreszcens feltéttel rendelkező fénymikroszkóppal váltak szabad szemmel is felismerhetővé, a fotódokumentációt a mikroszkóphoz csatlakoztatható Jenoptik CCD fényképezőgép segítségével végeztük.

A FISH reakció során a diszómiás sejtek két darab zöld és két darab narancsos - pirosas szignállal, a monoszómiás sejtek egy zöld és egy narancsos-pirosas szignállal, míg a triszómiás sejtek három zöld és három-narancsos pirosas szignállal rendelkeztek.

A megfelelő próbákkal (centroméra közeli és kromoszómavég közeli) próbáltuk az analízist megkönnyíteni a szignálok összeolvadásának kisebb valószínűsége érdekében, azonban a kromoszómasérülések okozta törésre, és egyenlőtlen szignálszorzódásra így is kiemelt figyelmet kellett fordítsunk. A kontroll mintákon alkalmazott FISH reakció 13-as triszómiát nem mutatott.

Mivel a STAG3 pozitív és negatív sejtek második célkitűzési pontunknak megfelelően minőségi, és a 13-as kromoszóma számát célzó harmadik célkitűzési



pontunknak megfelelően mennyiségi analízis is fluoreszcens antitestek segítségével valósult meg, így az előzetesen immunreakcióval kezelt sejtek ellenőrzését és fényképezését követően a fáradtságos munkával elért immunfluoreszcenciát a tárgylemezről szükséges eltávolítsuk, hogy az a FISH reakció során ne okozzon zavart az egymásra vetülő fluoreszcens jelek megtévesztő hatása által.

A sikerrel elvégzett FISH reakció után azonban a sejtek homogén kék színűek lettek és csak a kromoszómák megszámlálását lehetővé tevő zöld és narancsos-pirosas szignálok világítanak, tehát eltűnnek a STAG3 pozitív és negatív sejtek között fellelhető színbeli különbségek.

Ahhoz, hogy ellenőrizhessük mindkét reakció eredményét és a harmadik célkitűzési pontnak megfelelően a STAG3 pozitív és STAG3 negatív sejtekben előforduló 13-as triszómiás kromoszómák arányát megállapíthassuk, ahhoz az előzetesen elektronmikroszkóp segítségével megvizsgált és lefényképezett tárgylemezek párhuzamos analízisét kellett, hogy elvégezzük. Ebben volt segítségünkre a 3D Hystec CaseViewer programja. A program lehetővé teszi a megfelelő felbontású monitor mellett a párhuzamosan bescannelt lemezek egyidejű, párosított elemzését, ezáltal egyszerre két lemez is feldolgozható. A program segítségével a kis nagyítású tájékoztató nézettől egészen a kromoszómák analízisére alkalmas 10 mikrométeres nagy nagyítású nézetig van lehetőség. Az összepárosított lemezekon átlagosan ezer STAG3 pozitív és STAG3 negatív sejt szemmel történő ellenőrzését és megszámlálását végeztem, szigorú kritériumrendszer alapján, ezáltal kizárásra került minden olyan sejt, ahol az immunreakció nem egyértelmű, esetleg homályos, vagy a kromoszómák száma nem felelt meg a követelményeknek (pl. három darab zöld, azonban két darab narancsos-pirosas szignál a kromoszóma sérülését, nem pedig valódi triszómiát feltételez).

A negyedik célkitűzés az ovárium mozaicizmus modell létjogosultságának bizonyítása volt a 13-as triszómia esetén. Ennek módszere a STAG3 negatív 13-as triszómiás sejtek jelenlétének bizonyítása volt a vizsgált mintáinkban.

Statisztikai analízissel bizonyítottuk be, hogy a kontroll mintákban észlelt 13-as triszómiás sejtekhez képest szignifikánsan nagyobb számban fordul elő a vizsgált ovariumokban 13-as triszómia. A folyamatos változók összehasonlításához Spearman

korrelációt alkalmaztunk, a statisztikai szignifikancia szintjét  $P= 0.05$  értékként definiáltuk.



**Folyamatábra a kutatásom során alkalmazott módszerekről.**

(FISH: fluoreszcens in situ hibridizáció, anti-STAG3: stromal antigen 3, töltés-csatolt eszköz (charge coupled device))

## Eredmények

Kutatásom alatt összesen 12000 sejtet vizsgáltam meg a CaseViewer programmal, szem ellenőrzése mellett a fent említett kritériumok alapján. Ezek közül összesen 11416 darab 13-as diszómias sejtet, 171 darab 13-as triszómias sejtet és 35 darab 13-as monoszómias sejtet jegyeztem fel.

Tárgylemezenként átlagosan 916 STAG3 pozitív és 928 STAG3 negatív sejtet analizáltam.

Minden tárgylemez esetén találtam 13 triszómias petesejtet, mindkét célcsoportban.

A 13-as triszómias sejtek aránya a STAG3 pozitív sejtek esetén 2.04 % volt (0.8-3 % terjedő tartományban).

A 13-as triszómias sejtek aránya a STAG3 negatív sejtek esetén 0.91 % volt (0.4 – 1.5 % terjedő tartományban.)

A kontroll mintákban 13-as triszómias sejtet nem találtam, annak aránya 0 % volt.

Vizsgálataim során a negyedik célkitűzésemet teljesítettem, bizonyítva, hogy a STAG3 negatív, ezáltal még premeiotikus állapotban lévő sejtekben a 13-as triszómia szignifikánsan van jelen. Minden vizsgált mintánál fellelhető volt STAG3 negatív 13-as triszómias petesejt, az átlagos arány a STAG3 negatív sejtek esetén 0.91 % volt (0.4 – 1.5 % terjedő tartományban), míg a STAG3 pozitív sejtek esetén 2.04 % volt (0.8-3 % terjedő tartományban).

Az adatok elemzésekor igazolódott, hogy a tárgylemezekon fellelhető triszómias sejtek mennyisége a gesztációs korrrel szignifikánsan emelkedik.

(Ez az adat a STAG3 pozitív sejtek esetén  $r=0.93$ , STAG3 negatív sejtek esetén  $r=0.85$ ,  $p=0.0071$ )

## Következtetések

1. Tudományos munkám során a 16-23 hetes, nem genetikai okok miatt történt spontán, vagy középídős vetélésindukción átesett leánymagzatok petefészkeinek begyűjtését és feldolgozását sikeresen elvégeztem. A feldolgozott petefészkek gyűjtése során arra következtettem, hogy bár a touch-preparation előkészítési technika és a lehető leggyorsabb feldolgozás jelentősen elősegíti a minták vizsgálatát, azonban a kísérlet sikeressége szempontjából a vizsgálható csírasejtek száma a legfontosabb paraméter: az általunk feldolgozott tárgylemezek közül csak egy lemez esetén nem jártunk sikerrel, itt a korai terhességi kor miatt feldolgozható sejtek száma nem volt megfelelő, nem tudtuk elérni az általunk célként kitűzött 1000 STAG3 pozitív és STAG3 negatív sejt megszámlolását.
2. A sikeresen begyűjtött mintákban az anti-STAG3 antitesten alapuló immunreakció alkalmazásával eredményesen különválasztottam a premeiotikus és már meiózist megkezdett sejteket, majd fluorescens in situ hybridizációs módszer segítségével munkám során elsőként alkalmaztam e két módszer kombinációját a 13-as triszómiás sejtek elemzésére.
3. Dolgozatomban elsőként tudtam megerősíteni, hogy a 21-es triszómia kialakulásában Hultén és mtsai által bizonyítottan szerepet játszó petesejt mozaicizmus jelen van a 13-as triszómia patogenezisében is. A tradicionális dogmától jelentősen eltérő premeiotikus mitotikus non-diszjunkció bebizonyítására immunhisztokémiai és fluorescens in situ hibridizációs módszereket alkalmaztunk, az általunk vizsgált minták mindegyikénél találtunk 13-as triszómiás praemeiotikus sejteket.
4. Az általam vizsgált 16-23 hetes leánymagzatok ovariumában fellelhető triszómiás sejtek száma mindkét (STAG3 pozitív és STAG3 negatív) sejtcsoportban a gesztációs kor növekedésével szignifikánsan emelkedett. Ezzel

a petesejt mozaicizmus egyik alappilléret is megerősítettük, hiszen bizonyítottuk, hogy a terhességi kor növekedésével a mitózisok száma, és ezáltal a triszómiás sejtek mennyisége is növekszik.

## Az értekezés témájában megjelent közlemények

Horányi D, **Babay LÉ**, Rigó J, Györffy B, Nagy GR. (2017) Extended oral contraceptive application suppresses trisomy prevalence in women over 35 years of age. Int J Gynaecol Obstet, 138:261-266.

**IF:2,072**

Horányi D, **Babay LÉ**, Rigó J Jr, Györffy B, Nagy GR. (2018) Erratum to "Effect of extended oral contraception use on the prevalence of fetal trisomy 21 in women aged at least 35 years": [Int J Gynecol Obstet 138(2017) 261-266]. Int J Gynaecol Obstet, 140:258.

Horányi D, **Babay LÉ**, Györffy B, Nagy GR. (2018) A terhességet megelőzően alkalmazott hosszabb távú orális fogamzásgátlás mint a magzati 21-es triszómia lehetséges kockázatsökkentő tényezője idős anyai életkorban vállalt terhességben. Orv Hetil, 25:1008–1014.

**IF: 0,564**

**Babay LÉ**, Horányi D, Györffy B, Nagy GR. (2019) Evidence for the Oocyte Mosaicism Selection model on the origin of Patau syndrome (trisomy 13). Acta Obstet Gynecol Scand, 98(12):1558-1564.

**IF: 2,741**

## Az értekezés témájában megjelent előadások

Nagy GR, Györffy B, Horányi D, **Babay LÉ**, Nagy B, Rigó J Jr. (2015) Longer oral contraceptive use might be associated with lower risk for Down syndrome. The 22nd World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology and Infertility (COGI), All About Women's Health. Congress Program p.101.

Nagy GR, **Babay LÉ**, Horányi D. (2015) A triszómiák háttere – a petefészek mozaicizmus modell. Fiatal Nőorvosok Társasága Szakmai Továbbképző Tanfolyama és XI. Kongresszusa. Kecskemét. Absztraktok 27. old.

**Babay LÉ**, Nagy GR. (2017) The Ovarian Mosaicism Selection Model as a possible origin of common fetal trisomies. 11th Annual Meeting of the Egon and Ann Diczfalusy Foundation. Orastie, Romania.

**Babay LÉ**, Nagy GR. (2017) A 13-as triszómia eredetének nyomában. Fiatal Nőorvosok Társasága Szakmai Továbbképző Tanfolyama és XIII. Kongresszusa. Kecskemét.

**Babay LÉ**, Nagy GR. (2019) Az ovárium mozaicizmus modell, mint a triszómiák lehetséges háttere. Fiatal Nőorvosok Társasága Szakmai Továbbképző Tanfolyama és XIV. Kongresszusa. Kecskemét. Absztraktok: 15. old.

**Babay LÉ**, Nagy GR. (2020) A triszómiák lehetséges háttere a petesejt mozaicizmus. Fiatal Nőorvosok Társasága Szakmai Továbbképző Tanfolyama és XV. Kongresszusa. Kecskemét. Absztraktok: 35. old

Egyéb - nem az értekezés témájában megjelent közlemények

**Babay LÉ**, Horányi D, Rigó J, Nagy GyR. (2015) Új generációs szekvenálás és használata az aneuploidiák nem invazív praenatalis vizsgálatában. Orv Hetil, 156: 1041-1048.

**IF:0,291**

Egyéb - nem az értekezés témájában megjelent előadások

**Babay LÉ**, Nagy GR. (2015) Új generációs szekvenálás és használata az aneuploidiák nem invazív prenatalis vizsgálatában. Fiatal Nőorvosok Társasága Szakmai Továbbképző Tanfolyama és XI. Kongresszusa. Kecskemét. Absztraktok: 25. old.

**Babay LÉ**, Nagy GR. (2016) A nem invazív praenatalis tesztelés (NIPT) technikai háttere. Fiatal Nőorvosok Társasága Szakmai Továbbképző Tanfolyama és XII. Kongresszusa. Kecskemét. Absztraktok: 19. old.

**Összesített impakt faktor: IF: 5,6668**