

Válaszok a Prof. Dr. Tóth Zoltán opponensi véleményében feltett kérdésekre, észrevételekre

Köszönöm Dr. Tóth Zoltán egyetemi tanárnak, hogy dolgozatom részletes áttekintésére időt fordított, külön köszönöm értékes észrevételeit, kérdéseit, melyekre a következő válaszokat adom:

„A több tízezer humán gén közül milyen algoritmus alapján vezetett a választás a szerző által vizsgálat génekre?”

A méhen belüli növekedési visszamaradás multifaktoriális kórereditű, komplex kóréletteni háttérrel rendelkező kórkép, mely a várandósság során általában hosszabb idő alatt alakul ki. Ahogy a kialakulásában szerepet játszó környezeti okok, illetve anyai tényezők, úgy a genetikai faktorok is sokfélék lehetnek. A vizsgálandó gének kiválasztásánál igyekeztem azokra az intrauterin növekedés során kulcsfontosságú biológiai mechanizmusokra fókuszálni, melyek élettani működése a magzat megfelelő méhen belüli növekedéséhez elengedhetetlen. Mindezek alapján méhen belüli növekedési visszamaradás esetén az energetikai folyamatok genetikai szabályozásának megváltozása és ennek megfelelően az IGF-1, IGF-2 és IGFBP-3 gének expressziójának vizsgálata megkerülhetetlen szempontnak tűnt. Mivel az intrauterin retardatio gyakran a méhlepényi keringés romlásának a következménye, fontosnak tartottam, hogy angiogeneticus faktorok (VEGF-A, endoglin, PlGF) is a vizsgálatok tárgyát képezzék. Az intrauterin fejlődés physiologiás ütemének megváltozása fel kellett, hogy vesse a differentiatio, proliferatio, illetve apoptosizációs folyamatainak a megváltozását, ezért kerültek az EGF, a TGF- β 1, illetve a Bax- Bcl-2-gének az elvégzett vizsgálatok célkeresztjébe. Végül a szteroid-anyagcsere (11- β hidroxiszteroid dehidrogenáz 2), melynek kapcsán a *fetal programming* elmélet már korábban megfogalmazásra került, különösen izgalmas vizsgálati lehetőségeket kínált; egyes krónikus felnőttkori betegségek méhen belüli eredete, illetve a kóros magzati növekedési ütemmel való esetleges összefüggése ígéretes vizsgálati irányoknak tűnt.

A koraszülés a méhen belüli növekedési visszamaradáshoz hasonlóan komplex etiológiai hátterű kórkép, ugyanakkor a kórerediti faktorok közül kiemelkedik az intrauterin fertőzés szerepe. Koraszülés kapcsán a szteroid-anyagcsere genetikai regulációjának (11- β

hidroxiszteroid dehidrogenáz 2), az elemzése szükségesnek tűnt, ezért vizsgálataim legfontosabb irányát ez adta. Ugyanakkor az energetikai mechanizmusok megváltozása koraszülés esetén szintén megfigyelhető (nem ritkán méhen belüli növekedési visszamaradáshoz is társul), így az IGF-1, IGF-2, IGFBP-3 gének vizsgálata is célszerűnek tűnt. Az apoptoticus gének expresszióanalízisére elsősorban a placenta fiziológiás fejlődésének, „öregedésének” a megváltozása miatt került sor, hiszen a megváltozott méhlepényi funkció más „nagy” terheshathológiai kórképek (IUGR, praeeclampsia) etiológiájában is fontos kóroki tényező, s feltételezhetően a koraszülés bekövetkezésében is szerepet játszhat.

A leiomyoma uteri kórerediti tényezői közé a reprodukciós szempontok, az életkor, a szteroidhormonok esetleges használata, környezeti és életviteli faktorok mellett genetikai tényezők is tartoznak. Noha a daganat mind histológiai, mind morfológiai szempontból magán viseli a benignitas jegyeit, létrejöttében, növekedésében megtalálhatóak a tumorigenesis főbb jellemzői. Minden daganat növekedésében kulcsszerepet játszanak a megváltozott anyagcsere-folyamatok, melyek az intenzív sejtosztódás megváltozott energetikai igényét hivatottak fedezni; az IGF-2 gén myomaszöveti vizsgálata e szempont alapján került az elvégzett vizsgálatok fókuszába. A sejtpusztulás-sejtképződés rendszerének felborulása a tumorigenesis egyik alapvető mechanizmusa. Az apoptoticus egyensúly megváltozása a daganatképződés során megfigyelhető biológiai változás, mely alapján génexpressziós vizsgálataimból a Bax- és Bcl-2 géneket sem hagyhattam ki. A daganatképződés során az extracelluláris mátrix átalakulása szintén kulcsfontosságú esemény. Ez az intracelluláris retinol-szignalizációs rendszer működésének a megváltozására vezethető vissza. Az alkohol-dehidrogenáz 1 enzim génje lényegében e biológiai rendszer működésváltozásának az analízise céljából került a vizsgálandó gének csoportjába.

Multifaktoriális kórképek genetikai hátterének a vizsgálata során számos génműködés-vizsgálatnak létjogosultsága lehet. A vizsgálandó gének meghatározása szükségszerűen szubjektív, jelen esetben sincs másképp. Ezzel együtt arra törekedtem, hogy a vizsgálati irányok kijelölése megfeleljen azoknak az ismert kóreltani mechanizmusoknak, melyek megváltozása az egyes kórképek kialakulásában –számos egyéb tényező mellett– kulcsszerepet játszik. Természetesen a behatárolt pénzügyi lehetőségek is korlátozták a vizsgálandó gének számát; ez szükségképpen bizonyos kompromisszumokat tett elengedhetlenné.

„A méhen belül fejlődő magzat és az anya között a méhlepény bonyolult biológiai, hormonális, enzimátikus, immunológiai rendszerek révén biztosítja a zavartalan fejlődéshez az egyensúlyt. A magzati és anyai eredetű leány szövetében kimutatható génaktivitás mennyire tükrözi a magzati (intrinsic) és az anyai (extrinsic) keringésben kimutatható gének működését?”

A placenta a méhen belüli fejlődés 4. hónapjának kezdetén magzati részre (chorion frondosum) és anyai részre osztható. A fetalis oldalon a placentát a chorionlemez, anyai oldalon a decidua basalis határolja, köztük a decidualemez szorosan beépül a placentába. A 11-12. gestációs héttől a méhlepényből, vagy annak kezdeményéből a chorion frondosumból ultrahang-vezérelt mintavételre van lehetőség. A chorionszövet alkalmas a magzat chromosoma-összetételének a meghatározására, enzimek vizsgálatára és DNS-szintű magzati diagnosztikára is. E módszer alkalmazása során kb. 1-1% százalékos eséllyel lehet anyai sejt contaminatio, illetve placentaris mosaicismus (trophoblastban postzygoticus nondisjunctio) kialakulására számítani. Ezen esetekben az anyai sejtek és a placentaris mozaik sejtvonaltéves diagnózishoz vezethetnek. Ennek ellenére a chorionboholy-biopszia kiválóan alkalmas bizonyos magzati genetikai kvalítások vizsgálatára, melyek akár a terhesség kiviselése szempontjából is meghatározók lehetnek.

Vizsgálataink tervezésekor a méhlepény előbb említett, magzati genetikai karaktert reprezentáló jellegét figyelembe vettük és használtuk. A szülést követően nyert méhlepényszöveti mintán végzett génexpressziós vizsgálat elsősorban a magzati szervezetben megfigyelhető génműködés tekintetében informatív. Szemben a várandósság időszakával, amikor a méhlepény mellett a magzatvíz-mintavétel szintén megbízható diagnosztikus lehetőség bizonyos magzati genetikai vizsgálatok elvégzéséhez, szülést követően mintavételre már csak a placentaszövetből nyílik lehetőség.

A vizsgálatok továbblépési irányát jelenthetik azon vizsgálatok, melyekben a placentaris génexpresszió az anyai serum-génaktivitás összevetésében kerül értékelésre.

„A szerző által a placenta szövetében vizsgált genetikai markerek közül potenciálisan melyik használható majd fel biológiai markerként a klinikai gyakorlatban?”

Külön köszönöm a kérdést, hiszen ez az elvégzett vizsgálatokat egy potenciális klinikai kontextusba helyezi. A terhesgondozás során számos olyan szűrővizsgálatra kerül sor, mely

bizonyos genetikai vagy terhespathológiai kórkép(ek) valószínűségét hivatott megítélni, kijelölve ezzel egy további menedzselési protokollt az adott állapot megelőzése, biztos kórismézése vagy kizárása céljából. Az intrauterin retardatio illetve a koraszülés kapcsán nem áll sok szűrési lehetőség a rendelkezésre; különösen a predictio tekintetében szűkösek a lehetőségek. A chorionboholy-mintavétel saját önálló javallati körrel rendelkező, invazív vizsgálat, melyre legtöbbször a magzati chromosoma-rendellenességek magasabb kockázata miatt kerül sor. Egyéb tényezők mellett az e genetikai kórképek hátterében álló legfontosabb kockázati tényező a magasabb anyai életkor, mely egyébként számos terhespathológiai kórképre, így a méhen belüli növekedési visszamaradásra, illetve a koraszülésre is hajlamosíthat. Egy 12-20. terhességi hét között végzett méhlepény-boholy mintavétel karyotipizálás vagy más genetikai vizsgálat mellett, szűrőtesztként bizonyos méhen belüli növekedési visszamaradásra vagy koraszülésre hajlamosító gén vagy gének működésváltozásának a detektálása révén nyújthat értékes klinikai információkat. A méhen belüli növekedési visszamaradás vagy a koraszülés magasabb kockázata esetén egy személyre szabott terhesgondozási protokoll segíthet a kórkép megelőzésében vagy súlyosságának csökkentésében. A teljesség igénye nélkül: a magzati növekedés szorosabb monitorizálása, a méhlepény-functio gyakoribb ultrahangos kontrollja, a cervixhossz sűrűbb mérése, az ascendáló fertőzések intenzívebb prophylaxisa vagy éppen a várandós korai hospitalizálása egyaránt hozzájárulhatnak e súlyos terhespathológiai kórképek predictiójához, megelőzéséhez, illetve hatékony klinikai menedzseléséhez. Természetesen a szűrésre használt potenciális biológiai marker kiválasztása kulcsfontosságú a szűrőteszt klinikai hatékonysága tekintetében, s korántsem biztos, hogy az általam vizsgált gének nyújthatnák a leghatékonyabb predictiót. Amennyiben választanom kell a vizsgált gének közül, méhen belüli növekedési visszamaradás esetén az angiogenesisben szerepet játszó géneket (VEGF-A, endoglin, PlGF) és a méhlepény növekedésében szerepet játszó epidermal growth factort (EGF), míg koraszülés esetén a 11-béta hidroxiszteroid dehidrogenáz 2 gént választanám. A szűrési hatékonyság –akárcsak a chromosomarendellenességek szűrése esetén- a használt biomarkerek számával növelhető lehet.

Dr. Joó József Gábor

Budapest, 2017. július 29.