

Pécsi Tudományegyetem
Egészségtudományi Kar
Egészségtudományi Doktori Iskola



Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**Növekedési faktorok placentáris génexpressziójának
kóroki szerepe a méhen belüli növekedési visszamaradás
hátterében**

Dr. Rab Attila

Doktori Iskola vezető: Prof. Dr. Bódis József
Programvezető: Prof. Dr. Bódis József
Témavezető: Dr. Kornya László Ph.D

Pécs, 2015

Bevezetés

A méhen belüli növekedési visszamaradás a szülészeti gyakorlat számára hosszú ideje komoly kihívást jelent, napjainkban is az egyike a legjelentősebb terhespatológiai kórképeknek. Az IUGR következtében az újszülöttkori morbiditási és mortalitási adatok számottevően meghaladják a szövődménymentes terhességekben megfigyelhető értékeket, ebből fakadóan az időben történő kórismézésen túl a kórkép előrejelzése, esetleges megelőzése érdemben járulna hozzá a kedvezőbb postnatalis kilátásokhoz. A kórkép etiológiája összetett ugyan, - egyes anyai betegségek, alkat és kor, tápanyagbevitel, szociális környezet csakúgy, mint magzati genetikai rendellenességek, strukturális anomáliák, méhen belüli fertőzések kórokként szerepelhetnek-, ám leggyakrabban a méhlepény valamilyen működési zavarára vezethető vissza.

Vizsgálatainkat és dolgozatomat a kórkép genetikai hátterének kutatásának szenteltem, mivel ennek kapcsán a leghiányosabbak a tudományos ismeretek.

Célkitűzések

Vizsgálataim célja volt, hogy összehasonlítsam a méhen belüli retardatioval járó terhességekből származó méhlepények TGF- β 1- és EGF-génexpressziós mintázatát eutróf terhességekből származó szövetminták hasonló értékeivel és ezzel hozzájáruljak a TGF- β 1 és az EGF gén méhen belüli növekedési visszamaradásban játszott kóroki szerepének tisztázásához. A génexpressziós vizsgálatok eredményeit a rendelkezésre álló klinikai információk viszonyában értékeltük. Az anyai életkor, a született magzatok nemi megoszlása, a várandósság alatti anyai súly- és Body Mass Index-változás adatai lehetőséget adtak a génexpressziós eredmények gyakorlat-orientált értelmezéséhez.

Vizsgálataim céljául a következő kérdések megválaszolását tűztem ki:

1. Hogyan alakult a placentaris TGF- β 1 gén expressziós aktivitása intrauterin retardáció esetén az eutróf növekedésű terhességekből származó méhlepény-minták TGF- β 1 génexpressziós aktivitásához viszonyítva?
2. Mutatott-e összefüggést a TGF- β 1 gén méhlepényi aktivitása a magzat nemével?

3. Mutatott-e összefüggést a TGF- β 1 gén expressziós aktivitása a méhen belüli növekedési visszamaradás súlyossági fokával?
4. Hogyan alakult a placentaris EGF gén expressziós aktivitása intrauterin retardáció esetén az eutróf növekedésű terhességekből származó méhlepény-minták EGF génexpressziós aktivitásához viszonyítva?
5. Mutatott-e összefüggést az EGF-gén méhlepényi aktivitása a magzat nemével?
6. Mutatott-e összefüggést a EGF-gén expressziós aktivitása a méhen belüli növekedési visszamaradás súlyossági fokával?
7. Hogyan alakult a méhen belüli retardációban szenvedő újszülöttek nemi megoszlása?
8. Volt-e szignifikáns különbség a méhen belüli növekedési visszamaradásban szenvedő, illetve eutróf magzatokat világra hozó nők életkorértékeinek mediánértékében? Az anyai életkort korcsoportok szerint vizsgálva azonosítható-e szignifikáns különbség?
9. Hogyan alakult a terhesség alatti anyai testsúly- és Body Mass Index-növekedés intrauterin restrictio és eutróf magzati növekedés esetén?

Anyag és Módszer

Beteganyag

A vizsgálatban 2010. január 1. és 2011. január 1. között a Semmelweis Egyetemen kezelt 101, méhen belüli növekedési visszamaradásban szenvedő magzat születésekor nyert leepényszöveti minta EGF- és TGF- β 1-génexpressziós eredményeit hasonlítottuk 140 eutróf újszülött születése során nyert leepényminta génexpressziós eredményeihez. (Mínthogy a dolgozatom alapjául szolgáló kutatás egy nagyobb, a méhen belüli növekedési visszamaradás genetikai hátterét vizsgáló kutatássorozat része, így a beteganyag más placentaris génexpressziós aktivitást vizsgáló kutatások és tudományos dolgozatok tárgyául is szolgált. Ennek megfelelően a klinikai adatok /életkor, nemi megoszlás, testsúly- és Body Mass Index-változás stb./ e különböző tudományos munkákban észlelhető azonossága, e tény következménye.) Az anyai életkor, a terhesség alatti anyai súlygyarapodás és BMI-változás (Body

Mass Index) is elemzésre kerültek. A méhen belüli növekedési elmaradás diagnosztikus kritériumának a magzati súly nemnek és terhességi kornak megfelelő standard 10 percentilis alatti értékét tekintettük. A kórképet súlyosságától függően két vizsgálati csoportot képeztünk; a magzati súly nemnek és terhességnek megfelelő 0-5 percentilis közti eseteiben súlyos, 5-10 percentilis közötti eseteiben pedig enyhébb növekedési visszamaradást definiáltunk. A diagnózis felállításakor a hazai és nemzetközi gyakorlatban preferált ultrahang-vizsgálattal mért magzati méretek, úgymint fejméretek (biparietal diameter; BPD, occipito-frontal diameter; OFD) illetve fejkörfogát (head circumference; HC) combcsont-hossz (femur length) valamint haskörfogát (abdominal circumference; AC) hasonló terhességi korú eutróf magzatok megfelelő méreteihez történő viszonyítását alkalmaztuk. A méhen belüli retardáció elsődleges okaként a placenta funkciózavarát feltételeztük; erre a méhen belüli fertőzések, kromoszóma-rendellenességek, egyéb magzati fejlődési rendellenességek, anyai alultápláltság, többes terhesség, illetve lepényi rendellenességek kizárását követően került sor.

A minták feldolgozásakor a szülés módja alapján nem történt szelekció. A terhességek befejezésére a klinikai adatok mérlegelését követően per vias naturales, illetve császármetszés révén –vegyesen- került sor.

Módszer

A lepényből történt mintavétel során minden esetben kb. 2x2x2 cm (8 cm³) nagyságú szövetdarabot nyertünk, melyet a génexpressziós vizsgálat megkezdéséig -70 °C-on tároltunk. A mintavétel kapcsán a vizsgálatba bevont terhesek következő demográfiai és terhességre, szülésre vonatkozó klinikai adatait gyűjtöttük össze: anyai életkor, apai életkor, szülészeti előzmény, genetikai előzmény, egyéb betegségek, anya születési súlya, terhességi kor a szüléskor, magzat neme, súlygyarapodás a terhesség alatt, BMI-változás a terhesség alatt, szénhidrátanyagcsere-zavar a terhesség alatt, egyéb terhespatológiai kórkép a terhesség alatt, az újszülött súlya, Apgar-score. A vizsgálatokra a terhesek írásos beleegyezése alapján került sor.

A méhlepény mintákból a teljes RNS-állományt kinyertük; koncentrációját spektrofotométerrel határoztuk meg, a reverz transzkripciót követően a valós idejű PCR reakcióhoz a primereket Primer Express Software-rel (Applied Biosystems) terveztük meg.

Minden valós idejű PCR reakcióra MX3000 Real-time PCR (Stratagen) készülék segítségével a következő program szerint került sor: 40 ciklus, 95°C-on denaturálás 15 másodpercig, 60 °C-on primer-bekapcsolódás, lánchosszabbítás és detektálás 60 másodpercig. A vizsgált gén relatív expresszióját a humán *β-actin* génhez normalizáltuk.

A lepénymintákon az EGF és a TGFβ gén expressziós értékeinek kiszámításához kétmintás t próbát alkalmaztunk (konfidencia intervallum 95%). A szabadsági fokok meghatározására Welch-Satterhwaite korrekció segítségével került sor. A kapott génexpressziós értékeket a következőképpen csoportosítottuk: (1) túlműködés: ha a számított adat Ln értéke >1, p<0,05; (2) alulműködés: ha a számított adat Ln értéke <-1, p<0,05; (3) működésében nem változott: ha a számított adat Ln értéke <1, >-1, p<0,05. A demográfiai és klinikai adatok elemzéséhez szükséges matematikai modelleket az Spss-program csomag felhasználásával alakítottuk ki. Szignifikáns összefüggést p<0,05 érték esetén láttunk igazoltnak.

Eredmények

Génexpressziós eredmények

TGF-β1 (transforming growth factor –β1)

A TGF-β1 gén expressziójának összehasonlítására 101 méhen belüli növekedési visszamaradással járó és 140 eutróf magzattól származó lepény vizsgálata alapján került sor

Az IUGR-rel járó terhességekből származó lepényszöveti mintákban az eutróf magzatok placentaszöveti génexpressziós értékeihez képest a TGF-β1 működésváltozása nem volt megfigyelhető (Ln2α: 0.16; p=0.07).

Intrauterin retardációval járó terhességekben leány, illetve fiúmagzat esetén a lepényi TGF-β1 gén expressziója nemtől függő érdemi változást nem mutatott (Ln2α: -0.11; p=0.05).

A méhen belüli növekedési visszamaradás súlyosságát illetően a génexpressziós vizsgálatok a 0-5 percentilis-tartományba eső magzatoktól származó lepényszövetek TGF-β1-génaktivitása az 5-10 percentilis-tartományba eső magzatok hasonló paraméteréhez képest nem mutatott szignifikáns különbséget (Ln2α: 0.32; p=0.06)

EGF (epidermal growth factor)

Az EGF gén expressziójának összehasonlítására 101 méhen belüli növekedési visszamaradással járó és 140 eutróf magzattól származó lepény vizsgálata alapján került sor

Az IUGR-rel járó terhességekből származó lepényszöveti mintákban az eutróf magzatok placentaszöveti génexpressziós értékeihez képest az EGF alulműködése ($\text{Ln}2^a$: -1.54; $p=0.04$) volt megfigyelhető.

Intrauterin retardációval járó terhességekben leány, illetve fiúmagzat esetén a lepényi EGF gén expressziója nemtől függő érdemi változást nem mutatott ($\text{Ln}2^a$: 0.44; $p=0.06$)

A méhen belüli növekedési visszamaradás súlyosságát illetően a génexpressziós vizsgálatok a 0-5 percentilis-tartományba eső magzatoktól származó lepényszövetek EGF-génaktivitása az 5-10 percentilis-tartományba eső magzatok hasonló paraméteréhez képest nem mutatott szignifikáns különbséget ($\text{Ln}2^a$: -0.08; $p=0.05$)

Klinikai adatok

A 101 méhen belüli retardációban szenvedő magzattól a fiú-leány arány 0.58-nak (leány: 64; fiú: 37), míg a kontrollcsoportban 1.09-nek adódott (fiú: 73 leány 67); ez szignifikáns különbségnek felel meg ($p<0.05$).

Az IUGR-ben szenvedő magzattól világra hozó nők életkorának mediánértéke $30.82 \pm 4,34$ évnek, míg az érett magzattól szülő terhesek esetén $31,45 \pm 3,12$ évnek bizonyult ($p>0,05$).

Amennyiben az anyai életkort korcsoportokra bontva vizsgáltuk, szignifikáns különbség igazolódott. A 35-44 év közötti életkorú terhesek terhességeiben szignifikánsan gyakoribbnak bizonyult a méhen belüli magzati retardáció előfordulása, mint a fiatalabb korcsoportba tartozó terhesek körében

A vizsgálat során összehasonlított érett és intrauterin retardált magzatokat viselő terhesek terhesség alatti súlygyarapodása, illetve Body Mass Index-ük (BMI) változása szignifikáns különbséget mutatott

Érett magzattól viselő terhesek esetén az átlagos terhesség alatti súlygyarapodás 14,8 kg-nak, míg retardált magzatokat viselő várandósoknál 10,9 kg-nak bizonyult. Ugyanakkor a Body Mass Index változása az eutróf magzattól viselő várandósok 5,3-as értékével szemben az IUGR-ben szenvedő magzattól viselő nők körében 4,1-nek bizonyult.

Következtetések

1. A TRF- β 1 gén placentáris aktivitása intrauterin növekedési retardáció esetén az eutróf méhen belüli növekedéshez képest szignifikáns változást nem mutatott. Ennek feltehető magyarázata, hogy a TGF- β 1 koraterhességben érvényesülő endothelsejt-proliferációt elősegítő hatása méhen belüli növekedési visszamaradással járó (pathológiás) terhességekben kompenzációs mechanizmusként nem tud érvényre jutni.
2. A méhen belüli növekedési visszamaradással járó terhességekben leány, illetve fiúmagzat esetén a lepényi TGF- β 1 gén expressziója nemtől függő szignifikáns különbséget nem mutatott. A magzati nem a TGF- β 1-aktivitás tekintetében nem bizonyult meghatározó jelentőségűnek.
3. Az intrauterin retardáció súlyossági foka tekintetében a TRF- β 1 gén méhlepényi génexpressziója szignifikáns különbséget ugyancsak nem igazolt, a 0-5 percentilis-tartományba eső újszülöttektől származó lepényszöveti minták TGF- β 1 génexpressziós aktivitása szignifikáns különbséget az 5-10 percentilis-tartományba eső újszülöttekhez képest nem mutatott.
4. Anyagunkban a méhen belüli növekedési visszamaradásban szenvedő újszülöttektől származó lepényszövetekben az EGF génaktivitása szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult, mint az eutróf magzatok méhlepényi EGF-expressziós aktivitása. Az EGF génjének placentaris alulműködése megfelel annak a feltételezésnek, hogy a méhlepény-szövet lassabb gyarapodása összefüggésben állhat az epidermal growth factor csökkent termelődésével. Ennek alapján e gén a méhen belüli növekedési visszamaradás egyik lehetséges génszintű kóroki tényezőjének tekinthető.
5. A méhen belüli növekedési visszamaradással járó terhességekben leány, illetve fiúmagzat esetén a lepényi EGF gén expressziója nemtől függő szignifikáns különbséget nem mutatott. A magzati

nem az EGF-aktivitás tekintetében nem bizonyult meghatározó jelentőségűnek.

6. A méhen belüli növekedési visszamaradás súlyossági fokát illetően a 0-5 percentilis-tartományba eső újszülöttektől származó lepényszöveti minták EGF génexpressziós aktivitása szignifikáns különbséget az 5-10 percentilis-tartományba eső újszülöttekhez képest nem mutatott. Ez azt valószínűsíti, hogy a növekedési elmaradása mértéke a placentaris génexpresszió tekintetében nem bír érdemi jelentőséggel.
7. Vizsgálatainkban a méhen belüli növekedési visszamaradás leányokban szignifikánsan gyakoribbnak bizonyult, mint fiúkban. Ez feltételezhetően az esetszám következménye, nem vezethető vissza kórélettani-epidemiológiai összefüggésekre.
8. A méhen belüli növekedési retardációban szenvedő újszülöttet világra hozó nők életkorának mediánértéke és az eutróf újszülöttet szülő gravidák életkori mediánértéke között szignifikáns különbséget nem mutatkozott, ugyanakkor az anyai életkort korcsoportok szerint vizsgálva a 17-24, illetve 35-44 év közötti anyai életkor esetén, a magzati méhen belüli retardáció szignifikánsan gyakoribbnak bizonyult, mint 25-31, illetve 32-34 év között.
9. A méhen belüli növekedési visszamaradás gyakrabban fordult elő a kismértékű (3-9 kg), illetve az átlagost meghaladó fokú (14-17 kg) várandósság alatti súlygyarapodás esetén, mint az átlagos (10-13 kg) anyai súlygyarapodással járó terhességekben. A terhesség alatti Body Mass Index-változás intrauterin növekedési retardáció esetén szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult, mint eutróf méhen belüli fejlődés esetén.

Saját Publikációk Jegyzéke

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények jegyzéke

Rab A, Szentpéteri I, Kornya L, Börzsönyi B, Demendi C, Valent S, Zsom L, Hejja H, Joó JG.

Placental gene expression of transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) in small for gestational age newborns

JOURNAL OF MATERNAL-FETAL AND NEONATAL MEDICINE 2015: (IF 1.3)

Rab A, Szentpéteri I, Kornya L, Börzsönyi B, Demendi C, Joó JG
Placental gene expression patterns of epidermal growth factor in intrauterine growth restriction

EUROPEAN JOURNAL OF OBSTETRICS GYNECOLOGY AND REPRODUCTIVE BIOLOGY 170:(1) pp. 96-99. (2013) (IF 1.9)

Szentpéteri I, Rab A, Kornya L, Kovács P, Brubel R, Joó JG
Placental gene expression patterns of endoglin (CD105) in intrauterine growth restriction

JOURNAL OF MATERNAL-FETAL AND NEONATAL MEDICINE 27:(4) pp. 350-354. (2014) (IF 1.3)

Börzsönyi B, Demendi C, Rigó J, Szentpéteri I, Rab A, Joó JG
The Regulation of Apoptosis in Intrauterine Growth Restriction: A Study of Bcl-2 and Bax Gene Expression in Human Placenta

JOURNAL OF MATERNAL-FETAL AND NEONATAL MEDICINE 26:(4) pp. 347-350. (2013) (IF 1.3)

Szentpéteri I, Rab A, Kornya L, Kovács P, Joó JG
Gene expression patterns of vascular endothelial growth factor (VEGF-A) in human placenta from pregnancies with intrauterine growth restriction

JOURNAL OF MATERNAL-FETAL AND NEONATAL MEDICINE 26:(10) pp. 984-989. (2013) (IF 1.3)

Csanád M, Marosi K, Ágota A, Szentpéteri I, Rab A, Langmár Z, Börzsönyi B, Demendi C, Bódis J, Joó JG, Nagy ZB

Koraszülött és méhen belüli növekedési visszamaradás (IUGR)
méhlepény biobank létrehozása
EGÉSZSÉG-AKADÉMIA 2:(4) pp. 295-301. (2011)

Nem az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Joó JG , Csatlós É , Rab A , Beke A , Rigó J jr
Központi idegrendszeri fejlődési rendellenességek ikerterhességben:
diagnosztikai és egyéb klinikai súlypontok
MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 73:(1) pp. 55-60. (2010)

Joó JG , Rab A , Csaba Á , Csatlós Éva , Rigó J Jr
Többes terhességben bekövetkező spontán vetélések a fethopathológiai
vizsgálatok tükrében
MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 72:(4) pp. 167-172. (2009)

Joó JG , Rab A , Csaba Á , Rigó J Jr
Gemini terhességben történt középidegrendszeri megszakítások
kapcsán végzett fetopathológiai vizsgálatok
MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 72:(5) pp. 229-236. (2009)

Joó JG , Beke A , Papp Z , Tóth-Pál E , Csaba Á , Szigeti Zs , Rab A ,
Papp Cs
A jelentősebb craniospinalis malformációkhoz társuló nem központi
idegrendszeri rendellenességek
GYERMEKGYÓGYÁSZAT 59:(2) pp. 78-84. (2008)

Joó JG , Beke A , Szigeti Zs , Csaba Á , Rab A , Berkes E , Papp Z ,
Bóze T , Papp Cs
Az arteria umbilicalis singularis a fetopatológiai vizsgálatok anyagában
MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 71:(1) pp. 29-36. (2008)

Joó JG , Tóth Z , Beke A , Papp Cs , Tóth-Pál E , Csaba Á , Szigeti Zs
, Rab A , Papp Z
Etiology, prenatal diagnostics and outcome of ventriculomegaly in 230
cases

FETAL DIAGNOSIS AND THERAPY 24:(3) pp. 254-263. (2008) (IF 2.3)

Joó JG , Beke A , Szigeti Zs , Csaba Á , Rab A , Berkes E , Bóze T , Papp Z , Papp Cs

Spontán vetélések a fetopatológiai vizsgálatok anyagában
MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 71:(2) pp. 71-77. (2008)

Joó JG , Beke A , Rab A , Berkes E , Papp Z , Papp Cs , Rigó J Jr
Hasfali, mellkasfali rendellenességek ultrahang-diagnosztikája a foetopathológiai vizsgálat tükrében

MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 71:(3) pp. 113-119. (2008)

Joó JG , Beke A , Rab A , Csaba Á , Berkes E , Papp Z , Papp Cs , Rigó J Jr

Gyakoribb fejlődési rendellenességek a fetopatológiai vizsgálatok anyagában 1995-2006 között. Az ultrahang-diagnosztika hatékonysága a post mortem vizsgálatok tükrében

ORVOSI HETILAP 149:(35) pp. 1645-1652. (2008)

Görbe É , Jeager J , Nagy B , Harmath Á , Hauzman E , Hruby E , Kóhalmi B , Perlaki M , Sassi L , Rab A

Szérum-interleukin-meghatározás gyorseszteszt segítségével. Az újszülöttkori szepszis korai diagnózisa, kizárása

ORVOSI HETILAP 148:(34) pp. 1609-1614. (2007)

Joó JG , Beke A , Papp Z , Csaba Á , Rab A , Papp Cs

Risk of recurrence in major central nervous system malformations between 1976 and 2005

PRENATAL DIAGNOSIS 27:(11) pp. 1028-1032. (2007) (IF 3.2)

Joó JG , Beke A , Szigeti Zs , Csaba Á , Mezei G , Tóth-Pál E , Rab A , Papp Z , Papp Cs

A fetopathológiai vizsgálat szerepe a húgyúti rendszer rendellenességeinek klinikai megítélésében

MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 70:(6) pp. 355-362. (2007)

Konrád S , Rab A , Belics Z , Csapó Zs , Hupuczi P , Papp Z

Laparotomiát igénylő adnextályogok klinikánk 15 éves anyagában
MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 70:(2) pp. 109-118. (2007)

Somos P , Rab A , Fekete T , Belics Z , Szabó I
A hydrosalpingographia és a 2D/3D ultrahangvizsgálat értéke a méh
kettőződési rendellenességeinek diagnosztikájában
MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 70:(5) pp. 295-303. (2007)

Ujházy A , Csaba Á , Rab A , Kovács E , Balogh B , Papp Z
Vajon a mucopurulens cervicitis mikroszkópos képe alkalmas-e a
Chlamydia trachomatis-fertőzés előrejelzésére?
MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA 70:(4) pp. 241-245. (2007)

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom:

- Dr. Kornya Lászlónak, témavezetőmnek a mindenkori önzetlen és áldozatkész segítségéért és támogatásáért a doktori munkám kezdetétől,
- Dr. Joó József Gábornak a tudományos munkásságom elindításában és folyamatos támogatásában nyújtott sokoldalú segítségéért, ösztönzéséért,
- A Doktori Iskola munkatársainak a nélkülözhetetlen és mindig szíves segítségükért,
- Családomnak örökös támogatásukért.