

Prenatális szűrőmódszerek a 21. században

szülészet, genetika, orvosbiológia

A 21. században a gyermekvállalási kedv egyre későbbi életkorra tolódása tapasztalható a nőknél. A magasabb életkor sajnálatos módon megnöveli a magzati kromoszóma rendellenességek arányát: a statisztikai adatok szerint világviszonylatban 1000 újszülöttből 6 esetben jelentkezik valamilyen kromoszómális rendellenesség, a 35 évnél idősebb nők esetében viszont ez a szám a négyszeresére növekszik (1. ábra). A prenatális genetikai vizsgálatokra egyre nagyobb szükség van egy esetleges kromoszóma rendellenesség szűrése céljából. Mindezek tudatában a genetikai tanácsadás és a prenatális diagnosztika nagy szerepet tölt be ezen rendellenességek korai szűrésében, detektálásában.

A magzat különböző kromoszómális rendellenességeinek tekintetében megkülönböztethetünk számbeli és szerkezeti kromoszómális rendellenességeket. A számbeli rendellenességek közül a leggyakoribb az ún. triszómia, mely akkor alakul ki, ha egy kromoszóma eggyel több kópiában van jelen. A leggyakoribb triszómiák közé tartozik a Down kór, ami a 21-es kromoszóma triszómiája (2. ábra), a Patau szindróma, ami a 13-as kromoszóma triszómiája és az Edwards szindróma, ami a 18-as kromoszóma triszómiája. Más kromoszómák esetében is kialakulhat triszómia, de mivel ezek általában olyan súlyos tünetekkel járnak, ami az élettel nem összeegyeztethető, az érintett magzatok általában még születésük előtt elhalnak.

A manapság alkalmazott prenatális szűrővizsgálatok két nagy csoportra oszthatóak: a nem invazív vizsgálatok csoportját alkotják az ultrahangvizsgálat és az anyai vérből végzett biokémiai tesztek, míg az invazív vizsgálatokat a magzatvíz mintavétellel vagy más invazív beavatkozással nyert minták citogenetikai és molekuláris biológiai vizsgálata alkotja. A nem invazív szűrővizsgálatok megbízhatósága jelentősen eltérő lehet, ezeket a vizsgálati eredmények nem diagnosztikus eredmények, hanem elsősorban kockázatbecsléshez használják fel a genetikai tanácsadás során. Az invazív eljárások diagnosztikus értékűek, azonban esetükben fennáll kb. 1% kockázata a mintavétel módja miatt kialakuló a spontán vetélés miatt.

A nem invazív prenatális vizsgálatokban az áttörést az ún. magzatiszabad DNS anyai keringésben való felfedezése jelentette, mely óta (Loet *al.* 1997) a nem invazív prenatális diagnosztikai eljárások nagy léptekben fejlődnek (3. ábra). A szabad DNS a vér alakos

elemeinek DNS-étől elkülöníthető, mivel szabadon, a sejteken kívül van jelen a vérben. A várandósok esetében az anyai keringésben nem csak az anyai, de a magzat szabad DNS-e is jelen van kis százalékban (5-10%) (Loet *al.* 1998). A magzati eredetű szabad DNS a terhesség 5. hetétől van jelen az anya vérében, tehát lehetővé teszi, a korai prenatális diagnosztikát. Rövid cirkulációs felezési ideje van (16 perc), és a szülést követően csupán 2 óráig van jelen az anyai vérben.

1997 óta számos ígéretes technológiai fejlesztés történt, azonban egyik sem bizonyult elég nagy felbontásúnak és megbízhatónak a nagyon híg magzati szabad DNS frakció detektálására és a magzati triszómiák kimutatására. Az 1997 óta eltelt időben azonban a molekuláris vizsgálómódszerek hihetetlen fejlődést mutattak, és megjelent az újgenerációs szekvenálási technológia, mely már alkalmasnak bizonyult a szabad DNS kimutatására. Ez a technológiai áttörés tette lehetővé, hogy az elmúlt néhány évben az ún. újgenerációs szekvenálási technológiát alkalmazó szabad DNS-t detektáló vizsgálatok világszerte elérhetővé váltak. Magyarországon 2011-ben jelent meg az első kereskedelmi forgalomban kapható teszt, azóta pedig számos további teszt követte a hazai piacon. Ezen vizsgálatok nagy megbízhatóságúak, azonban az alkalmazott technológiai miatt meglehetősen drágák, munkaigényesek, csak külföldi laboratóriumokban elérhetőek, ezért nem hozzáférhető a hazai várandósok széles köre számára.

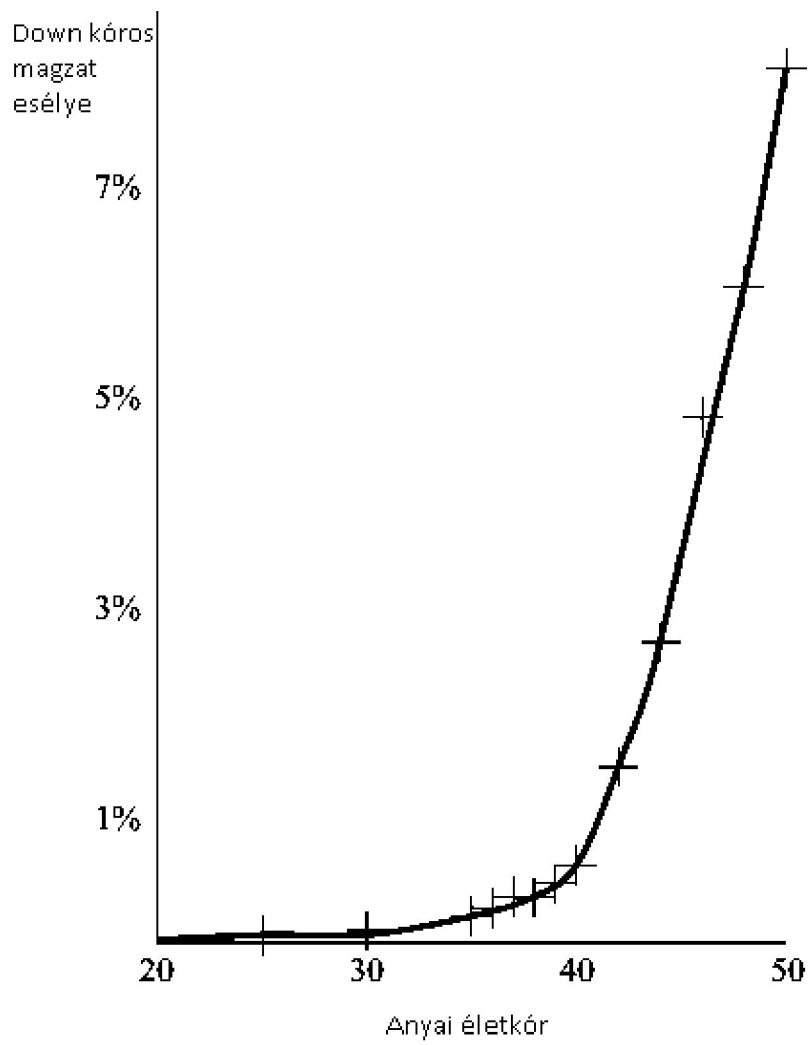
A nem invazív prenatális diagnosztika területén végzett kutatások egyik alapvető célja az újgenerációs szekvenálási technológiát alkalmazó szabad DNS-t detektáló vizsgálatokhoz hasonlóan megbízható, ámbar jóval olcsóbban kivitelezhető technológiák fejlesztése. Így ezek a vizsgálatok már a magyar várandósok széles köre számára is megengedhetőek és elérhetőek lennének. Ilyen alternatív technológiai platform a szintén új digitális PCR technológia (4. ábra). A módszer lényege, hogy egy vizsgálati mintát (térfogata 20 μ l) nanoliter nagyságú buborékokra diszpergál, majd a PCR reakció minden buborékban egyedileg zajlik le. A PCR reakció végén azok a buborékok, amelyekben a felszaporítani kívánt szabad DNS fragmentum jelen volt, azok pozitív buborékokként, amelyekben pedig nem volt jelen, azok negatív buborékokként ábrázolódnak. A magas buborékszám és a híg szabad DNS minta miatt a módszer igen nagy felbontású. A digitális PCR technológia mellett más alternatív módszerek fejlesztése is folyamatban van, melyek ígéretesek lehetnek a jövőbeli várandósok számára és további

mérföldkövet jelenthetnek a szabad DNS alapú, nem invazív prenatális diagnosztika fejlődésében.

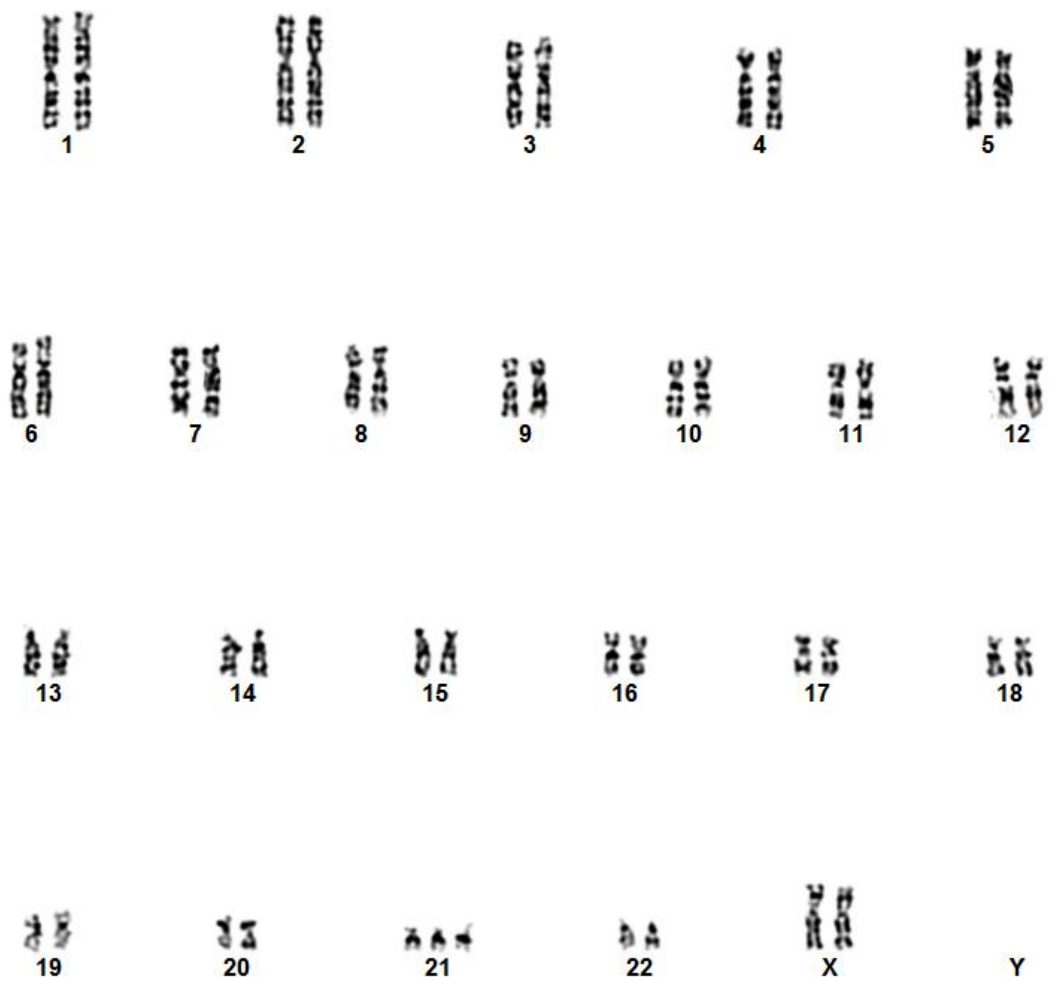
A kutatás a TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Szerzők:

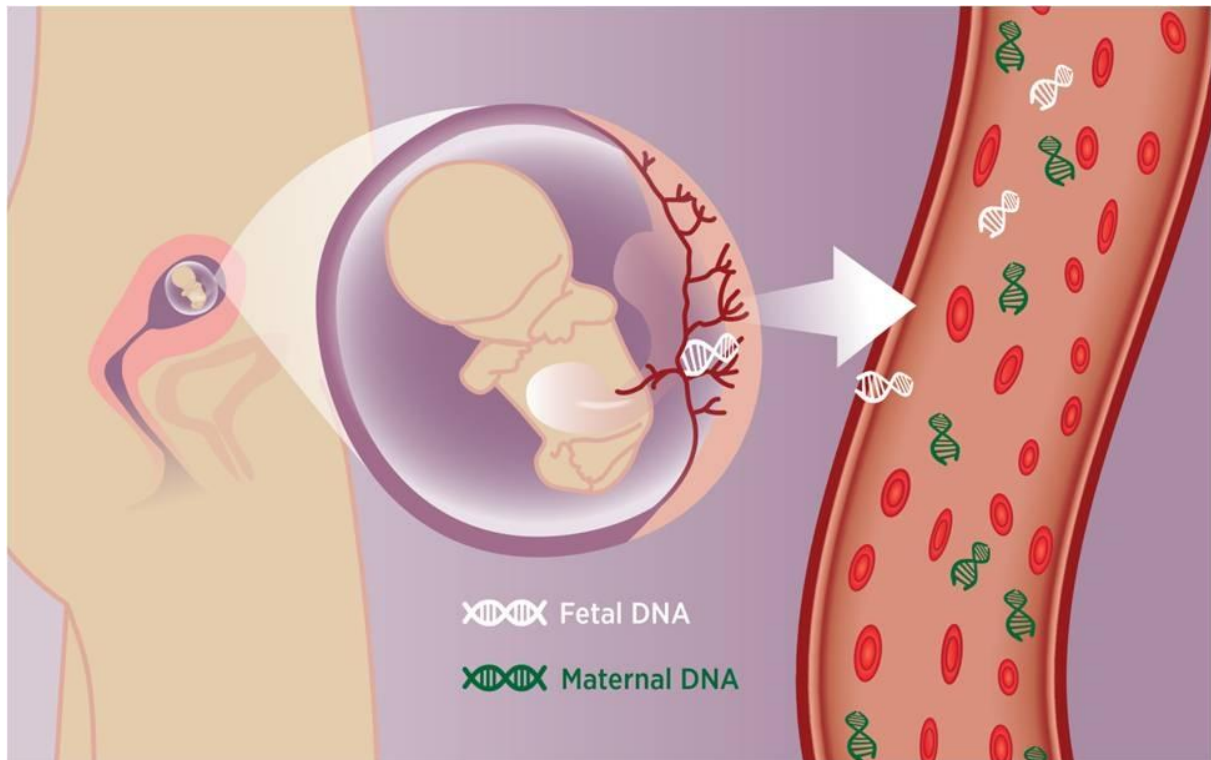
Tripolszki Kornélia, Nagy Nikoletta, Horváth Emese, Széll Márta



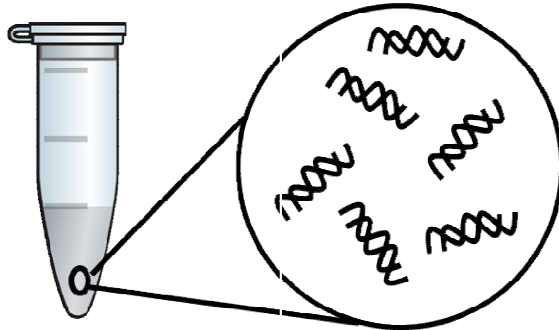
1. ábra Az anyai életkór előrehaladásával a Down kór kockázata növekszik.



2. ábra A 21-es kromoszóma triszómiájainvazív mintavételezés után végzett citogenetikai vizsgálattal.



3. ábra Az anyai keringésben lévő szabad DNS magzati és anyai eredetű (Forrás: <http://pressrelease.co.za/fetal-assessment-centre-offers/>).



4. ábra A digitális PCR technológia során egy vizsgálati mintát számos nanoliteres nagyságrendű boburékra bontunk szét. Azok a buborékok, melyek a PCR során felszaporítani kívánt szabad DNS fragmentumot tartalmazzák a reakció végén pozitív buborékokként (piros buborékok), míg azok amelyek más fragmentumot tartalmazznak vagy üresek negatív buborékokként (kék buborékok) jelennek meg. A magas buborékszám és a nagy hígítás adja a módszer nagy felbontását.