

A „szabad” nukleinsavak jelentősége a noninvazív diagnosztikában

Nagy Bálint dr.¹ ■ Csanádi Zoltán dr.² ■ Póka Róbert dr.³

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, ¹Humángenetikai Tanszék,
²Kardiológiai Intézet, ³Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Debrecen

Napjainkban nagy az érdeklődés a „szabad” nukleinsavak pontos élettani szerepének és klinikai diagnosztikai felhasználásának a meghatározására. A „szabad” nukleinsavak lehetnek DNS-, mRNS-, mikro-RNS- és hosszú nem kódoló RNS- (lncRNA-) molekulák, amelyek megtalálhatók a testfolyadékokban, így például a szérumban, a nyálban, a könnyben. Az élettani szerepük kiderítése napjainkban is folyik, viszont egyre jelentősebb a diagnosztikai alkalmazhatóságuk. A magzati diagnosztikában a noninvazív módon történő mintavétel után nyert „szabad” DNS-t felhasználva több tesztet forgalomba hoztak, ezek specifitása és szenzitivitása eléri a 99,9%-ot. A szív- és keringési betegek korai diagnosztizálásában a „szabad” nukleinsavak meghatározása biztató eredményekkel szolgál. Az onkológiában a „folyadékbiopsziával” kapcsolatos közlemények megjelenése a más területen dolgozó egészségügyi szakemberek és a közvélemény figyelmét is felkeltette. Folytak a mikro-RNS szerepének és diagnosztikai alkalmazhatóságának a meghatározásai is. A „szabad” nukleinsavak új generációs szekvenálással történő felhasználására a korai diagnosztikában óriási az érdeklődés, de egyelőre nincs elég klinikai adat a lehetséges tesztek megbízhatóságáról és klinikai hasznosságáról. *Orv. Hetil., 2016, 157(48), 1900–1909.*

Kulcsszavak: „szabad” nukleinsavak, DNS, mRNS, mikro-RNS, folyadékbiopszia, diagnosztika

The importance of “free” nucleic acids in the non-invasive diagnostics

There is a great interest to determine the physiological role of “free” nucleic acids, and to use them in the clinical diagnostics. These could be DNA, mRNA, microRNA and long non-coding RNA molecules, they are in the body fluids, like serum, tear, saliva, etc. Their exact role in the normal and pathological physiological processes is still in the focus of the research, while their use in the diagnostics is becoming more and more important. The use of „free” DNA in the non-invasive prenatal diagnosis is the first clinical application of the new generation sequencers, these methods are able to reach 99.9% specificity and sensitivity for the detection of the most common trisomies. There are promising results in their use in the diagnosis and classification of heart and cardiovascular diseases. In oncology the possibility to use the “liquid biopsy” captured the attention of not only researchers and clinicians, but the whole community. There is not enough data until today for the clinical utility and applicability of these methods.

Keywords: “free” nucleic acids, DNA, mRNA, microRNA, liquid biopsy, diagnostics

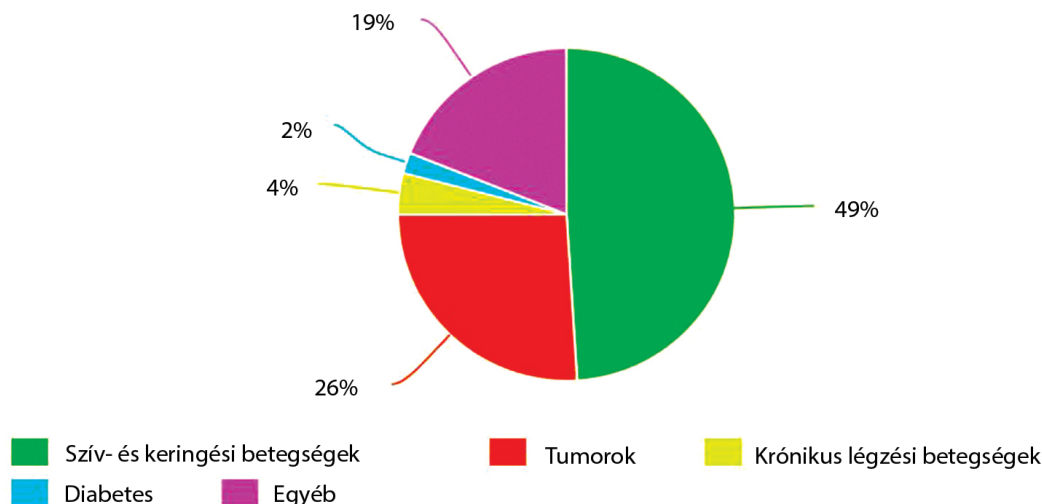
Nagy, B., Csanádi, Z., Póka, R. [The importance of “free” nucleic acids in the non-invasive diagnostics]. Orv. Hetil., 2016, 157(48), 1900–1909.

(Beérkezett: 2016. szeptember 22.; elfogadva: 2016. október 13.)

Rövidítések

AMI = akut myocardialis infarctus; CNA = copy number gain; CRP = C-reaktív protein; CRT = szívreszinkronizációs terápia; ctDNS = keringő tumor-DNS; DNS = dezoxiribonukleinsav; EF = ejekciós frakció; HDL = high-density lipoprotein; LDL = low-density lipoprotein; lncRNA = (long non-coding RNA)

hosszú nem kódoló RNS; MPS = (massive parallel sequencing) tömeges paralel szekvenálás; NGS = új generációs szekvenálás; NIPT = (non-invasive prenatal testing) noninvazív magzati szűrés; NPV = negatív prediktív érték; PCR = polimeráz láncreakció; PF = pitvarfibrilláció; PPV = pozitív prediktív érték; RNS = ribonukleinsav; SNP = egynukleotidos polimorfizmus; SzE = szívelégtelenség



1. ábra | A magyarországi halálzási okok 2014-ben a WHO adatai alapján

A magyarországi halálzási statisztikában a szív- és keringési betegségek 49%-os aránnyal, a tumoros megbetegedések 26%-kal listavezetők (1. ábra). Az utóbbi időszakban folyamatosan növekszik mindkét megbetegedés száma. A tumoros megbetegedések esetében az új esetek száma a világon 2012-ben elérte a 14 milliót, a halálzások száma a 8,2 milliót. Az új betegek száma várhatóan 70%-kal fog növekedni a következő két évtizedben (WHO Cancer Reports 2014). Ezek az adatok mutatják, hogy a korai diagnosztikában és a kezelések monitorizálása során is lépéseket kell tenni a rohamosan növekvő számú betegpopuláció korszerű, hatékony ellátására. De az olyan élettani folyamat, mint a várandósság kapcsán végzett genetikai diagnosztikai eljárások is egyre több házaspárt érintenek, főként a késői gyermekvállalás kapcsán mutatkozó gyakoribb genetikai betegségek kimutatása. Erre a molekuláris genetikai eredmények klinikai alkalmazása nyújt kiváló lehetőséget. A „szabad” nukleinsavak felhasználása a diagnosztikában és a terápiában forradalmian új eljárásokat tesz lehetővé. A betegtől egy egyszerű vérvétellel nyert mintából (elegánsan „folyadékbiopszia”) a szérumban vagy a plazmában fellelhető „szabad” nukleinsavakat felhasználva az új genetikai módszerek kiterjesztése óriási jelentőséggel bír.

A naponta százával megjelenő közlemények nyomán követése még a témával foglalkozó szakemberek számára is kihívás, új fogalmak jelennek meg, régi dogmák dőlnek meg egyik pillanatról a másikra. Egyre bonyolultabbak és komplikáltabbak lesznek az élettani működésekről kapott ismereteink. Összefoglalónkban próbálunk betekintést nyújtani a „szabad” nukleinsavakról és azok felhasználásáról a klinikai gyakorlatban.

A „szabad” nukleinsavak általános jellemzői

A „szabad” nukleinsavak típusait és méretjellemzőit az 1. táblázatban foglaltuk össze.

„Szabad” DNS

A „szabad” DNS jelenlétét Mandel és Metais már 1948-ban leírták, de felfedezésük sokáig nem keltett különösebb érdeklődést [1]. Tan és mtsai az autoimmun betegségekkel már 1966-ban összefüggésbe hozták, majd később megint a tumorokkal [2]. Leon és mtsai a „szabad” DNS-t 1977-ben kezdték alkalmazni a tumordiagnosztikában és a kezelésmonitorizálásban, de az utóbbi évtizedig nem történt áttörés ezen a területen [3]. Ellenben Dennis Lo a magzati diagnosztikában sikeresen alkalmazta az anyai vérben 5–10%-ban jelen lévő „szabad” DNS-t a magzat nemének és RhD vércsoportjának meghatározására a noninvazív módon nyert mintákból már 1997-ben [4]. Az anyai vérkeringésben lévő magzati sejtek és a „szabad” DNS felhasználhatósága párhuzamosan kerültek vizsgálatra. Kezdetben a magzati sejtek és azok alkalmazása az amplifikációs eljárások során tűnt a biztatóbb módszernek [5]. Bianchi és munkacsoportja végzett jelentős kutatásokat ezen a területen [6]. Napjainkban a figyelem inkább a „szabad” nukleinsavakra irányul. Nagy volt az érdeklődés a magzati triszómiák kimutatása iránt, ezeket megbízhatóan csak az új generációs szekvenálási módszerek (NGS) biztosítják [7]. Yaron számolt be 2016-ban az irodalomban eddig közzétett vizsgálatok számáról, 370 348 esetet gyűjtött össze tömeges paralel szekvenálással és 27 195 esetet kro-

1. táblázat | A „szabad” nukleinsavak típusai és méretei

„Szabad” nukleinsav	Méret
DNS	166 bp
mRNS	Változó
Mikro-RNS	18–24 bp
Mitokondriális DNS	>166 bp
Hosszú nem kódoló RNS	<200 bp

moszómaspecifikus szekvenálással végzett meghatározásokról [8]. Az NGS a klinikai gyakorlatba a magzati diagnosztika során már bevezetésre került NIPT (non-invasive prenatal testing) néven. Annak ellenére, hogy több százezer mintáról állnak rendelkezésre klinikai adatok és a módszer specificitása, szenzitivitása eléri a 99,9%-ot a 21. kromoszóma triszómiájának a kimutatására, az NIPT még nem diagnosztika, azaz a pozitív eredményeket a hagyományos invazív módon nyert (amniocentesis, méhlepény-biopszia) minták karyotipizálásával meg kell erősíteni, mert még mindig ez az arany standard módszer. A különböző tesztek forgalmazó cégek által megadott magas specificitás és szenzitivitás félrevezetheti még a szakembereket is, a pozitív prediktív érték (PPV) és a negatív prediktív érték (NPV) több információt szolgáltatnak. Az előbbi annak a valószínűségét fejezi ki, hogy egy pozitív szűrési teszttel rendelkező személy valóban beteg, az utóbbi pedig azt, hogy a negatív szűrési teszttel rendelkező személy nem beteg [9].

A betegek szérumban megjelenő tumoreredetű „szabad” DNS rendkívüli lehetőséget biztosít a tumorspecifikus mutációk és egyéb genetikai eltérések kimutatására és a kezelés nyomon követésére. DNS-metilációs eltéréseket és víruseredetű nukleinsavakat is ki lehet mutatni különböző tumorokban [10]. Napjainkban különböző PCR-alapú módszereket alkalmaznak a mikroszatelliták és a jellemző mutációk detektálására [11]. Ezeknél érzékenyebb és pontosabb meghatározásokat biztosít a tömeges paralel szekvenálás (MPS) új biomarkerek kimutatásának a lehetőségével, de a teljes genom is lefedhető [12].

„Szabad” mRNS

Az emberi genomban körülbelül 25 000 gén található, amelyek ha aktívak, bekapcsolt állapotba kerülnek, mRNS íródik át róluk. A különböző szövetek egyedi mRNS-profillal rendelkeznek, ezek a szérumba is kikerülnek, ahonnan kimutatható a jelenlétük. Várandósság során placentaspecifikus markerek mutatkoznak, amelyek alkalmasak lehetnek a diagnosztikában. Az egyik ilyen lehetőség az egynukleotidos polimorfizmus (single nucleotide polymorphism – SNP) felhasználása, az egyes allélok aránya mutatja, hogy hány kópiában van jelen az adott allél, 1:1 arány diallélikus, 1:2 vagy 2:1 arány triszómiás magzatot jelez [13].

A keringésbe kerülő mRNS, meglepő módon, stabil és kimutatható a szérumból vagy plazmából, annak ellenére, hogy magas az RNáz-aktivitás. Ezt az exoszómákba és microvesiculomokba való csomagolással éri el a szervezet [14].

„Szabad” mikro-RNS

A mikro-RNS-ek a nem kódoló RNS-molekulák csoportjába tartozó 19–25 bázispár hosszú molekulák, ame-

lyek hosszabb, 70–100 nukleotidból álló prekursorokból keletkeznek. Jelentős részük a kromoszómák törékeny részén kódolódik, amely régióknak jelentős szerepe van a DNS-amplifikációkban, -deletiókban és -transzlokációkban a tumorok fejlődése során.

A mikro-RNS felfedezése az RNS-interferencia leírásával kezdődött 1990-ben petúniáknál. Később *Fire és mtsai* elvégezték az első kísérleteiket *C. elegans*-nál és leírták a kis interferáló RNS-t 1998-ban, amiért nyolc évvel később Nobel-díjjal tüntették ki őket [15, 16]. Csak jóval később, 2010-ben derült ki, hogy a szöveteiken kívül a mikro-RNS jelen van a különböző testfolyadékokban is, így a vérben, székletben, nyálban, tejben [17]. A mikro-RNS keletkezhet passzívan necrosis és fertőzések következtében, vagy aktív módon az extracelluláris részecskék és makromolekula-komplexekben (Ago, LDL, HDL) történő kiválasztásukkal [18].

Az egyes betegségekben mért mikro-RNS-koncentrációk sokszor ellentétesek, ennek az oka a standardizált kimutatási módszerek hiánya [19].

A „szabad” nukleinsavak klinikai alkalmazhatósága

Praenatalis magzati diagnosztika

Magzati „szabad” DNS

A legegyszerűbb lehetőségnek a kezdetekben a szérumból vagy a plazmából izolált „szabad” nukleinsavak méretmeghatározása tűnt, mivel a magzati „szabad” DNS-t rövidebbnek határozták meg. Ezzel kapcsolatban sok ellentmondó közlemény jelent meg, amely számos félreértésre adott okot. Ezek az ellentmondások főként technikai okokra vezethetők vissza, a módszerek fejlődése, az eljárások standardizálása segített a régebbi megfigyelések megmagyarázásában.

Az anyáktól noninvazív módon levett mintákból már a kezdeti munkák kimutatták, hogy a magzati „szabad” DNS rövidebb az anyainál, ez a különbség első rátekintésre elég nagy (200 bp vs. >1000 bp), de nem volt alkalmazható a klinikai diagnosztikában [20]. Gél-elektroforézist, majd ezt követően a kvantitatív PCR-t használták a méretek meghatározására, sok ellentmondással tarkítva [21]. A pontosabb méretmeghatározást csak a tömeges paralel szekvenálás (MPS) tette lehetővé, ami alapján meghatározták, hogy az anyai plazmából izolált DNS-ből egy 166 bp és egy 143 bp nagyságú lényeges fragmentum mutatható ki, de ezek után vannak kisebb csúcsok is 10 bp különbségekkel [22]. Ezek alapján azt feltételezik, hogy az anyai eredetű fragmentum esetén létezik egy becsomagolt nukleoszómaegység (146 bp) és egy kapcsoló fragmentrégió (20 bp), magzati DNS-nél ez a kapcsoló fragment hiányzik. A 10 bp különbséggel mutatkozó kisebb fragmentumok azon dinukleotid ismétlődő egységekből eredhetnek, amelyek a hisztonokkal vannak kapcsolatban [23].

Tumoreredetű „szabad” DNS

Ellentmondóak az adatok a tumoreredetű DNS-fragmentumok méretével kapcsolatban is, a tumor típusától függően különböző méretűnek határozták meg. A kezdeti kvantitatív PCR-en alapuló tanulmányok azt sugallták, ezek hosszabbak, később viszont rövidebbnek találták őket [24]. A tömeges paralel szekvenálás lehetőséget biztosított ezen ellentmondás feloldására, *Jiang és mtsai* tanulmányozták a fragmentumok méretét hepatocellularis carcinómában [25]. Ezeknél a betegeknél is a várandós nők szérumban kimutatott 166 bp nagyságú csúcs volt a legnagyobb mértékben megjelenő a szérumból izolált DNS-ben, ami az apoptózissal történő keletkezésére utal. A fragmentumok méretprofilja viszont azt mutatja, hogy a kisebbek tartalmazzák a tumorra specifikus kópiaszámvesztéseket és -felszaporodásokat (copy number gains – CNA). A hosszabb fragmentumok megjelenése, amelyek kisebb mértékben mutathatók ki, a necrosis hozhatók összefüggésbe, ezek viszont nem tartalmazzák a tumorra kapcsolatos kópiaszám-eltéréseket [25]. Ez a megfigyelés arra hívta fel a figyelmet, hogy a kisebb frakcióra kell koncentrálni, és a kezelés folyamatát is az ebben a mérettartományban megfigyelhető változások alapján lehet jól monitorozni.

Mitokondriális DNS

A sejtmageredetű DNS-sel ellentétben a mitokondriális DNS vizsgálata során nem a nukleoszómákra jellemző 166 bp nagyságú fragmentum a jellemző, hanem a rövidebbek. Ez azzal magyarázható, hogy nincsenek hisztónok a mitokondriális DNS-en, amelyek védelmet biztosítanak az enzimatis lebonthatással szemben. Ennek a DNS-fajtának a koncentrációja tumoros betegek esetében lényegesen magasabbnak bizonyult [25].

A miRNS

A mikro-RNS mérete 18–24 bp között változik, a génregulációban van fontos szerepük. Az utóbbi időben kerültek a tanulmányok középpontjába. A leggyakoribb triszómiák kimutatására is történtek próbálkozások miRNS felhasználásával, de az NGS-alapú módszerek megbízhatósága miatt kisebb az érdeklődés ezekre. Viszont vannak jóval gyakoribb, a várandósság kapcsán jelentkező betegségek, mint a gesztációs diabetes, a praeeclampsia és a congenitalis szívbetegségek, ahol még nagyobb jelentőségük lehet.

A gesztációs diabetes a várandósok 6–8%-ában jelentkezik, a betegség kimutatása a 26–28. terhességi héten végzett glükóztolerancia-teszten alapul a rutin terhességi ellátás során. A kezelés korai megkezdése megelőzheti a szövődmények kialakulását. Erre alkalmasak a miRNS-molekulák, amelyek anyai vérből már a 12. héten kimutatók, például a *miR-16*, *miR-17*, *miR-19a*, *miR-19b* és *miR-20* [26].

A praeeclampsia a várandósok 3–5%-ában mutatkozik, eddig nem sikerült olyan biomarkert találni, amely megbízhatóan előre jelezné a súlyos kórkép kialakulását.

A miR-146a-5p, a miR-199a-5p és a miR-221-3p mutat alacsonyabb expressziót és összefüggést a kórkép kialakulásával [27]. További vizsgálatok szükségesek az alkalmazhatóság pontos megállapítására.

A várandósok 1%-ában jelentkeznek a congenitalis szívbetegségek, ezek kimutatása jelenleg ultrahangvizsgálaton alapul, azonban a korai diagnosztikában, akár már a 12. héttől erre alkalmasnak tűnnek a *miR-99a*, *let-7c*, *miR-152b-2*, *miR-155* és *miR-802* [28].

Hosszú nem kódoló RNS

A hosszú nem kódoló RNS-ek (long non-coding RNA – lncRNA) 200 bp-nál hosszabb fehérjét nem kódoló nukleinsav-molekulák, a gének közötti és az intronok közötti régiókban vagy az adott gén szensz és antiszensz száláról íródnak át [29]. A sejten belül a nucleusban és a kromatinban helyezkednek el, de a szérumba is kikerülnek. Az élettani szerepük az átírás utáni szabályozásban, valamint a telomer replikációjában, RNS-interferenciában van [30].

A diagnosztikai alkalmazhatóság jelenlegi helyzete

Magzati diagnosztika

A jelenlegi magzati diagnosztika Magyarországon főként az államilag finanszírozott invazív mintavételek (méhlepény, magzatvíz) során nyert minták karyotipizálásán alapul. Ez az elfogadott, arany standard módszer. Az utóbbi években a noninvazív módon nyert mintákból, tehát anyai vérből izolált DNS felhasználásával az új generációs szekvenáláson alapuló módszerek felhasználásával történik a leggyakoribb triszómiák kimutatása. A várandósok azonban saját maguk fizetik ki az árát ennek a vizsgálatnak az erre szakosodott magánvállalkozásoknak. A módszerrel kapott pozitív eredményeket minden esetben a hagyományos módszerrel meg kell erősíteni.

Az anyai plazmából nyert „szabad” DNS, amely az anyainak 5–10%-a, tömeges paralel szekvenáláson alapuló módszerrel 99,9%-os biztonsággal ki tudja mutatni a Down-szindrómát, de a 18-as és a 13-as kromoszóma triszómiáját is hasonló pontossággal. A téves pozitív eredmények 0,5% alatt vannak [31, 32]. A legutóbbi eredmények alapján a módszer már alkalmas a magzati RhD vércsoport, a génmutációk, a nemikromoszóma-rendellenességek, microdeletiók, mikroduplicációk és egyéb kromoszómaeltérések kimutatására is [33]. A Magyar Humángenetikai Társaság állásfoglalását már 2014-ben megfogalmazta az eljárással kapcsolatban, a többi nemzetközi genetikai társasághoz hasonlóan. Jelenleg tesztként és nem diagnosztikai módszerként javasolja a vizsgálat eredményének az elfogadását. A módszerről történő tájékoztatás és az eredmény kiadása genetikai tanácsadáson keresztül kell, hogy történjen. A módszer előnyei kétség kívül, hogy noninvazív mintavételre alapul, csökkenti az invazív beavatkozások számát, nagyon

gyors, egy héten belül elkészül az eredmény. Alkalmas a családon belül lévő mutációk kimutatására is. Lehetséges olyan minor kromoszóma-rendellenességek kimutatása, amelyek hagyományos karyotypizálással nem lehetségesek. Arra azonban fel kell hívni a figyelmet, hogy a különböző cégek által forgalmazott NIPT-termékek nem egyformák, különböző a kimutatási alapjuk és nem egyformák a kimutatási lehetőségeik.

Szív- és keringési betegségek

Akut myocardialis infarctus

Az akut myocardialis infarctus (AMI) diagnosztikájában a troponinmeghatározás terjedt el. Újabb vizsgálatok szerint legalább 20 mikro-RNS szintje mutat összefüggést az AMI-val és ezekből legalább 9 a troponinszintekkel [34]. A *miR-1*, *miR-133*, *miR-208* és a *miR499* a legjobban tanulmányozott molekulák koszorúér-betegségekben és akut myocardialis infarctusban [35]. A sérült myocardiumból kiáramló mikro-RNS-ek mellett az akut esemény után emelkedett szintet mutató miRNS-ek részben extracardialis eredetűek, mint például a *miR-30c*, *miR-145*, amelyek ugyanakkor összefüggést mutatnak az infarctus méretével. Emellett találtak 20 olyan mikro-RNS-t, amelyek nagyfokú specificitással és szenzitivitással előre jelzik a MI-t [36]. Több tanulmány a *miR-208* és *miR-499* szintjeit vizsgálta, használhatóságukat a klinikai rutinban nagyobb betegszámon alapuló elemzések alapján lehet megítélni [37, 38].

Szívelégtelenség

A *szívelégtelenség* (SzE) laboratóriumi diagnosztikájában jelenleg a legtöbb segítséget és információt az N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) szintjének meghatározása jelenti. A *szívelégtelenség*en belüli két entitás, a megtartott bal kamrai ejekciós frakcióval (EF) járó SzE (heart failure with preserved EF: HF_{per}) és a csökkent EF-fel járó (heart failure with reduced EF: HF_{ref}) elkülönítése képalkotó eljárások nélkül nehézséget jelent, mivel e két SzE-entitás klinikai tünetei hasonlóak és az NT-proBNP-szint alapján sem lehet differenciálni a kettő között. A miRNS-ek diagnosztikus használhatóságáról HF_{per} és HF_{ref} valamint nem *szívelégtelen* betegek kohorszaiban a közelmúltban számoltak be [39]. Öt miRNS-t találtak, amelyek potenciálisan használhatónak tűntek mind a nem *szívelégtelen* versus SzE-ben szenvedő betegek, mind a HF_{per} és HF_{ref}-entitások elkülönítésében: *miRNS-30c*, *-146a*, *-221*, *-328* és *-375*. Az öt miRNS közül bármelyik kettő az NT-proBNP-vel együtt szignifikánsan javította a diagnosztikus modell pontosságát a csak BNP-meghatározáshoz képest.

A *szívreszinkronizációs pacemakerterápia* bevezetése a *szívelégtelen* betegek kezelésében az egyik legfontosabb előrelépést jelentette az utóbbi 20 évben. Az optimális beteg kiválasztás számos szempontját sikerült azonosítani, köztük olyan pozitív válasz-prediktorokat, mint a tí-

pusos bal-Tawara-szár-blokk-mintázat, a minél szélesebb (>150 ms) QRS-szélesség, a nem ischaemiás *szívelégtelenség* etiológiája és a női nem [40]. Igazolódott, hogy a *szívelégtelen* betegek prognózisának felmérésére kifejlesztett Seattle Heart Failure Model a *reszinkronizált* betegeken is használható [41]. Mindezek ellenére az ajánlásoknak megfelelő beteg kiválasztás mellett sem alakul ki a várt terápiás hatás a betegek mintegy 20–40%-ában. Szükség van tehát további prediktív markerek azonosítására, amelyek használatával ez a szám lejjebb szorítható.

Egy közelmúltban megjelent tanulmány a miRNS-ek használhatóságát vizsgálta a *reszinkronizáció* hatásának előrejelzésében [42]. Első lépésben 6-6 CRT-kezelés után *reszponder* és *nonreszponder* betegen elemezték 766 különböző miRNS plazmaszintjének összefüggését a terápiás válasszal. Négy olyan miRNS-t (*miR-409-3p*, *miR-30d*, *miR-99b* és *miR-766*) találtak, amely korrelált a *reszponderitással*. Ezt a 4 miRNS-t a továbbiakban prospektíven vizsgálták további 40 betegen, akiket legalább hat hónapig követtek a *reszinkronizáció* hatásának felmérésére, valamint egészséges (nem *szívelégtelen*) kontrollegyenekben. A *reszponderitás* kritériuma a kiinduláshoz képest legalább 10%-os bal kamrai ejekciós-frakció-növekedés volt. Többváltozós lineáris statisztikai modellezéssel végül a *reszponderitás* legjobb prediktorának a *terápia* előtt emelkedett *miR-30d*-plazmaszintet találták. *Reszponder* betegeken a *miR-30d* plazmaszintje hat hónappal a *reszinkronizációs* kezelés után csökkent, míg a *terápiarefrakter* esetekben szignifikánsan nem változott. További fontos megfigyelés volt, hogy a *miR-30d* plazmakoncentrációja a sinus coronariusban 18-szoros volt a perifériás mintához képest, ami a *szívizomsejtekből* történő felszabadulásra utal, feltételezések szerint a mechanikai stressznek kitett területéről. A *miR-d30* magas kiindulási értéke eszerint a súlyos *aszinkronia* jele, csökkenése pedig a sikeres *reszinkronizációs* hatásra, következményesen a myocardiumstressz megszűnésére utal.

Pitvarfibrilláció

A *pitvarfibrilláció* (PF) a teljes népességen belüli 1–2%-os előfordulásával szintén korunk egyik cardiovascularis pandémiája. A betegséghez társuló magas morbiditás, mortalitás és az egészségügyi ellátórendszerre rótt terhek indokolják azokat a nagyon jelentős erőfeszítéseket, amelyeket alapkutatók és klinikusok a mechanizmus megértése, a mielőbbi felismerés és hatékonyabb gyógyítás, a szövődmények megelőzése érdekében tesznek. Ez utóbbiak közül a legsúlyosabb következmény a PF-hez társuló stroke, ami megfelelő alvadásgátló kezeléssel többnyire megelőzhető lenne. Ezért is jelent különösen nagy problémát, hogy az esetek pontosan nem ismert, de bizonyosan jelentékeny hányadában a PF tünetmentessége miatt észrevétlen (néma) marad, és az első tünetet a következményes stroke. Ez különösen igaz a ritmuszavar

paroxysmalis formáira, hiszen ilyenkor még az EKG-vizsgálat is megtévesztő (negatív) eredményt adhat, ha éppen nem zajló PF alatt készül. Bármely egyszerű vér-vizsgálattal kimutatható eltérés, ami PF előfordulására utal, éppen ezért fontos segítséget jelentene azoknak a kiválasztásában, akiknél fokozott erőfeszítés, tartós monitorozási technikák (Holter-vizsgálatok, transztelefonos EKG, implantálható aritmiamonitor) használata indokolt a PF dokumentálására. Liu és mtsai [43] aritmiamentes, paroxysmalis és perzisztens pitvarfibrilláló betegeken végzett miRNS-vizsgálatok során a *miRNS-150* szintjét PF-ben jelentősen alacsonyabbnak mérték, paroxysmalis csoportban 1/17-nek, a perzisztáló betegek között 1/20-nak a kontrollokhöz képest, és fordított arányban korreláltak a CRP-értékekkel. Egy másik vizsgálat [44] amellett, hogy megerősítette a *miRNS-150*-nel kapcsolatban leírtakat, szintén csökkent expressziót mutatott ki a miRNS-21 vonatkozásában. A PF miatt végzett katéterablatiót követően mindkét miRNS szintje a kiindulási érték háromszorosára emelkedett.

Szívfejlődési rendellenességek

A hosszú nem kódoló RNS alkalmazásának az egyik érdekes lehetősége a szív- és keringési betegségek. Számos közlemény mutatta ki az elmúlt években, hogy az lncRNA fontos szerepet tölt be a szív fejlődésében. Ilyen például a *Braveheart* (Bvht), amely felülexpresszált a szívben, de nem kódol fehérjét, viszont hatással van a *MESPI*-re, amely fontos differenciálódási faktor, embrionális őssejtekkel szívizomsejteket képez [45]. Másik hasonló molekula a *Fendrr*, amely az átírási hálózathoz szükséges, a hisztonmódosító komplexekkel lép kapcsolatba, deletiója kamrai elváltozásokat okoz [46]. Legújabbban három lncRNA-t írtak le, amelyek az embrionális őssejtekkel az endothelsejtek fejlődését segítik elő, ezek a *TERMINATOR*, *ALIEN* és *PUNISHER* [47]. De más cardiovascularis betegség modellezésekor megtalálták e molekulák szerepét [48]. Például a *CARL*, amely szívapoptózissal hozható összefüggésbe, kap-

csolódik a *miR-539*-hez, amely gátolja annak hatását a mitokondriumhasadásra, hasonló hatású az lncRNA *MDRL*, amely a *miR-361*-et alulszabályozza [49].

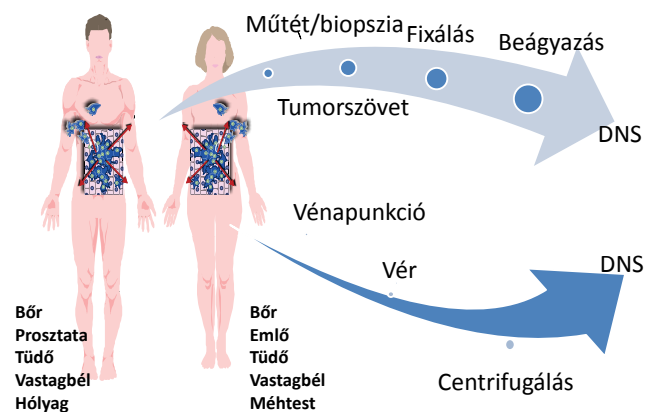
Tumordiagnosztika

A tumorok diagnosztikája bonyolultabb, és kevés adat áll rendelkezésre a „folyadékbiopsziával” nyert minták feldolgozása során kapott eredményekről és klinikai tapasztalatokról. Az NIPT-vel elért 99,9%-os specificitástól és szenzitivitástól még nagyon messze vagyunk a tumordiagnosztika területén. A tumorok hagyományos invazív eljárással történő szövettani és molekuláris diagnosztikai vizsgálata a standard elfogadott diagnosztikai eljárás napjainkban. Ez lehetőséget nyújt olyan genotipizálások elvégzésére is, amelyek segítik a célzott terápia kiválasztását. Az elmúlt években a „folyadékbiopszia” nagy reményeket nyújt a keringő tumor-DNS- (ctDNS-) molekulák felhasználásával a korai tumordiagnosztika és terápia felállításához. Ezek a nukleinsavak az apoptotizáló tumorsejtekből és a keringő tumorsejtekből származnak [3, 11, 12].

A 2. ábra az invazív műtétek során és a noninvazív „folyadékbiopsziával” nyert minta feldolgozási eljárásait hasonlítja össze, mutatva azt is, hogy melyek a leggyakoribb daganatok a férfiaknál és a nőknél. A műtét alkalmával eltávolított tumor szövettani és molekuláris diagnosztikai vizsgálaton megy keresztül, ami hosszadalmas, nem reprezentálja a szervezetben megtalálható összes daganatot. Ellenben a vérben keringő DNS segítségével feltérképezhető a daganatok összes árulkodó jele, amely a teljes szervezetben mutatkozik, nem csak az eltávolított tumorszövetben. Kimutatható, hogy mely DNS-szakaszok fordulnak elő a vártnál magasabb vagy alacsonyabb arányban, vagy milyen mutációk találhatóak meg. Noha jelenleg a tumorok hagyományos invazív eljárással történő szövettani és molekuláris diagnosztikai vizsgálata az elfogadott eljárás, számolni kell azzal, hogy amikor már elegendő adat áll rendelkezésre a noninvazív módon nyert minták feldolgozásáról, ez változni fog.

A ctDNS a tumorsejtekből jut a vérbe és az eredeti tumor mutációit tartalmazza. Az új generációs szekvenálók kifejlesztésével napjainkban lehetőség nyílik a genetikai eltérések specifikus és érzékeny kimutatására a noninvazív módon vett mintákból. Ez a jelenlegi tumordiagnosztikát jelentősen segítheti, lehetőséget nyújthat a tumor korai kimutatására, a prognózis és a kezelés meghatározására. Lehetőséget ad a személyre szabott gyógyítás bevezetésére.

A tumorok genotipizálása nagyon fontossá vált a kezelése során, főként az immunoterápia alkalmazásakor. A klinikai gyakorlatban a genotipizálás szöveti biopsziákból történik, ez a minta azonban nem alkalmas a tumor heterogenitásának és állandó változásainak valós idejű monitorizálására, erre jobban megfelel a vérből izolált ctDNS. Számos tanulmány bizonyította, hogy a ctDNS gyorsan képes előre jelezni a terápia kimenetelét, és fon-



2. ábra | Tumorszövet- és folyadék-biopszia technológiai összehasonlítása

tos információt nyújt a klinikusnak a következő kezelések megtervezéséhez [12].

Súlyos probléma a terápiarezisztencia kialakulása, amely a kezelések sikertelenségének a legfőbb oka. A legújabb eredmények felhívják a figyelmet arra, hogy a folyadékbiopsziával nyert minták felhasználásával a tumorrezisztencia jóval korábban jelezhető.

A folyadékbiopsziával nyert mintákból izolált ctDNS lehetőséget nyújthat a jövőben a tumorok korai diagnosztizálásához és a genotipizálás eredményeinek felhasználásával a kezelések hatékonyabbá tételéhez, a kezelés hatékonyságának a monitorizálásához, a személyre szabott terápia bevezetéséhez.

A 2. táblázat mutatja a „szabad” DNS alkalmazhatóságát a különböző tumorok diagnosztikájában és a prognózis megállapításában. Látható, hogy hol alkalmas a metiláció, a DNS-integritás, a mikroszatellita-eltérés, vírus-DNS jelenléte és a mitokondriális DNS markerként. A módszer elterjedéséhez és elfogadtatásához szükséges a ctDNS keletkezésének, a sejtekből történő kibocsátás és véráramba kerülés biológiájának a jobb és pontosabb megismerése. Napjainkban még kevés adat áll rendelkezésre a klinikai és analitikai validitástról, továbbá a klinikai hasznosságról.

Patogenezis és diagnosztika

A humán genom 76%-a fehérjét nem kódoló, 200 bázispárt meghaladó méretű RNS-szakaszokban íródik át (long non-coding RNA – lncRNA) [50]. 2003-ban *Rangel és mtsai* írták le első ízben egy petefészekrákra specifikus (human ovarian cancer specific transcript-2 – HOST-2), a 10-es kromoszómához köthető 2,9 kb méretű RNS-t, amely nem rendelkezik olvasási kerettel és fehérjét sem kódol [51]. A *HOST-2*-expresszió gátlása a petefészekrákból izolált OVCAR-3 sejtvonal migrációját, proliferációját és invázióját egyaránt gátolta. Ennek a mechanizmusa máig sem tisztázott, de egy közelmúltbeli vizsgálat szerint a *HOST-2* molekuláris szivacsként köti a *let-7b* miRNS-t, s ezáltal gátolja annak működését. A *let-7b* miRNS-ről már korábban ismert volt, hogy a *HMG2A*, *c-myc*, *Dicer* és *Imp3* onkogének expresszióját gátolja, így a *let-7b* szintjének csökkenése fokozza azok expresszióját [52]. A fehérjét nem kódoló RNS-ek a templátként szolgáló DNS elhelyezkedése szerint nemcsak intronokban, hanem exonokban és akár ezek antiszensz szálán is képződhetnek. Ennek egyik példája a *HOX* transzkripció antiszensz RNS (*HOTAIR*). A 6232 bp méretű lncRNA 12-es kromoszóma q13.13 szakaszán képződik. A *HOX* géncsalád C tagjának transzkriptumaként a *H3* hiszton metilációját idézi elő, s ezáltal a 2-es kromoszómán elhelyezkedő *HOXD* gén epigenetikus blokkolását eredményezi [53]. Epithelialis petefészekrákban a *HOTAIR* expressziója jelentősen emelkedett, és a tumorprogresszióban kifejtett hatása az apoptózisban szerepet játszó gének (*cyclin E*, *BCL-2*, *caspase-9*, *caspase-3* és *BRC1A1*) szabályozásán keresztül ér-

2. táblázat | A különböző tumorok és a „szabad” DNS felhasználhatósága a diagnosztikában és a prognózisban

Tumor	„Szabad” DNS	Diagnosztikus marker	Prognosztikus marker
Cervix	Metiláció	√	√
	Vírus-DNS	√	
Colorectalis	Mutáció	√	√
	DNS-integritás	√	
	Metiláció	√	√
Hepatocellularis carcinoma	Metiláció	√	√
	Mikroszatellita-eltérés		√
	Mutáció	√	√
	DNS-integritás	√	√
	Vírus-DNS	√	
Húgyhólyag	DNS-integritás	√	√
	Metiláció	√	
	Mikroszatellita-eltérés	√	
Mell	Metiláció	√	√
	Mikroszatellita-eltérés	√	√
	DNS-integritás		√
	Mutáció		√
	Mitokondrium	√	
Petefészek	Metiláció	√	√
	DNS-integritás	√	
	Mutáció		√
Prostata	Metiláció	√	√
	Mikroszatellita-eltérés	√	
	DNS-integritás	√	√
	Mitokondrium		√

vényesül. Egy sor további lncRNA-ról igazolódott, hogy különböző jelátviteli utakon keresztül vesznek részt a petefészekrákos sejtek proliferációjának, migrációjának, inváziójának, áttétképzésének és kemoterápiával szembeni érzékenységének szabályozásában [50].

Dahiya és mtsai 2008-as tanulmányukban 56 különböző miRNS szerepét igazolták a petefészekrák patogenezisében, s közülük 16 mutatott átfedést más tanulmányokban már feltételezett jelentőségükkel. A 16 miRNS közül 9-nél a kontrollhoz képest csökkent expresszió (*let-7d*, *miR-106b*, *miR-122a*, *miR-141*, *miR-183*, *miR-195*, *miR-200a*, *miR-335*, *mir424*), 7-nél pedig megnövekedett expresszió (*miR-100*, *miR-199a*, *miR-296*,

miR-29a, *miR-29c*, *miR-99a*, *mir-494*) volt a jellemző [54]. A *let-7* miRNS-család olyan konzekvens változásai jellemzőek petefészekrákban, amelyek szuppresszor funkcióra utalnak [48]. Bár a *miR-21* túlexpresszióját számos daganattípusban kimutatták, petefészekrákban ez a típus bizonyult a legkifejezettebben alulreguláltnak. Nem meglepő, hogy a *miR-21* az apoptózissal és a csökkent sejtproliferációval asszociált miRNS-marker. A *miR-221* és *miR-222* a *CDKN1C*-expresszió befolyásolása révén játszik szerepet a petefészekrák patogenezisében [55]. Klinikai vizsgálatok szerint a kettő aránya szignifikáns korrelációt mutat a túléléssel. A 3,7 alatti expressziós arányú esetek medián túlélése 35 hónap alatti, míg a 3,7 fölötti expressziós arányú esetek medián túlélése 35 hónap fölötti volt. A *miR-152* expressziója petefészekrákos sejtekben lényegesen alacsonyabb, mint a normálsejtekben. A *miR-122*-t korábban már tumorsuppresszorként jellemezték, ami emlőrákban az *IGF1R*-et célozva szabályozza a *PI3K/Akt/mTOR/p70S6K* jelátviteli útvonal működését. *Langhe és mtsai* tanulmánya petefészekrákban is hasonló funkciót igazolt a *miR-122* szintjei alapján [55].

Prognosztika és onkoterápia

A *miR-152* magas expressziója petefészekrákban a cisplatinnal szembeni érzékenységgel jó korrelációt mutat [55]. Ennek a felismerésnek a jelentőségét az okozza, hogy bár a többnyire előrehaladott stádiumban felismert petefészekrák gyógyulási eredményeiben gyökeres változást hozott a műtéti technológia és az első vonalbeli platina-taxán kombinációs terápia, a betegek túlélését ma már jelentős részben a platinarezisztencia kialakulása korlátozza. A petefészekrák gyógyulási eredményeinek javításában prioritást élvez a platinarezisztens folyamatok ellen irányuló hatékony modalitások kifejlesztése. Számos új kemoterápiás, immunterápiás és célzott biológiai kezelési módszer kifejlesztése van folyamatban, de a platinaérzékenység előrejelzése továbbra sem megoldott. A tumormarker és képalkotó vizsgálatok csak egy-két hónap vagy néhány hónap elteltével képesek a platinarezisztencia kialakulásának igazolására. A *miR-93* magas szintje szintén platinarezisztenciával hozható összefüggésbe. A *miR-214* a *miR-93*-mal azonos útvonalon hat [56, 57]. *Yu és mtsai* kimutatták, hogy a *miR-29(a/b/c)* csökkent expressziója cisplatinrezisztenciát jelez, és kísérletes körülmények között *miR-29* knock-out alkalmazásával a platinaérzékenység visszaállítható [58]. A szekvenenciaanalízis technológiai fejlődése a teljes humán genom feltérképezésével 2001-ben megnyitotta az utat a széles palettával végzett genomasszociációs klinikai vizsgálatok előtt [59]. 2010-re már több száz olyan közlemény jelent meg, amelyek 70–50–30 génre tudták szűkíteni azokat a mintázatokat, amelyek egyes daganattípusokra vonatkozó fogékonyságot, egyes altípusok jelenlétét vagy kedvező és kedvezőtlen prognózis előrejel-

zésében alkalmazhatónak bizonyultak. Petefészekrákkal kapcsolatban több száz beteg klinikai és egyenként mintegy 1000 különböző miRNS-expressziójára vonatkozó adataiból robusztus számítástechnikai elemzéssel sikerült egy 35 egyedi miRNS-re vonatkozó mintázatot kialakítani, amelyből egyszerű algoritmussal klinikailag releváns prognosztikai index határozható meg [60]. Az algoritmust egy szintén több száz klinikai esetet tartalmazó adatbázison validálva a szerzők meggyőzően igazolták az alacsony és magas rizikójú (HR>3) esetek elkülönítésének lehetőségét a miRNS-mintázat alapján.

Következtetések

A „szabad” nukleinsavak felhasználása az elkövetkező időszakban nemcsak a noninvazív praenatalis, hanem a „folyadékbiopszián” alapuló diagnosztikában is jelentősen növekedni fog. Folyik a biológiai szerepük pontos meghatározása és a különböző betegségek differenciáldiagnosztikájában való alkalmazhatóságuk vizsgálata. Az NIPT elterjedése várhatóan kiszorítja a méhlepénybiopsziát és a magzatvízvételt, amint lesz annyi klinikai adat, hogy a klinikai alkalmazhatóság és hasznosság pontosan meghatározható lesz.

A szív- és keringési betegségek diagnosztikájában, valamint az egyes kezelések várható hatékonyságának az előrejelzésével kapcsolatban sok közlemény jelenik meg, de jelenleg a klinikai gyakorlatban még nem alkalmazzák a „szabad” nukleinsavakon alapuló meghatározásokat, de néhány éven belül itt is komoly áttörés várható.

Az onkológiai betegségek diagnosztizálása lesz valószínűleg a következő terület, amely a magzati diagnosztika után a legnagyobb mértékben használja majd fel a „szabad” nukleinsavakat. Várható olyan új generációs gyógyszerek bevezetése, amelyek az interferenciát kihasználva új típusú gyógyszerek kifejlesztését teszik lehetővé.

Anyagi támogatás: A közlemény megírása anyagi támogatásban nem részesült.

Szerzői munkamegosztás: A szerzők a kézirat elkészítésében egyenlő arányban vettek részt. A cikk végleges változatát mindegyik szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltség: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Irodalom

- [1] Mandel, P., Metais, P.: Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'homme. C. R. Seances Soc. Biol. Fil., 1948, 142(3–4), 241–243.
- [2] Tan, E. M., Schur, P. H., Carr, R. I., et al.: Deoxybonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. J. Clin. Invest., 1966, 45(11), 1732–1740.

- [3] Leon, S. A., Shapiro, B., Sklaroff, D. M., et al.: Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res.*, 1977, 37(3), 646–650.
- [4] Dennis Lo, Y. M., Corbetta, N., Chamberlain, P. F., et al.: Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*, 1997, 350(9076), 485–487.
- [5] Bianchi, D. W., Flint, A. F., Pizzimenti, M. F., et al.: Isolation of fetal DNA from nucleated erythrocytes in maternal blood. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 1990, 87(9), 3279–3283.
- [6] Bianchi, D. W., Klinger, K. W., Vadnais, T. J., et al.: Development of model system to compare cell separation methods for the isolation of fetal cells from maternal blood. *Prenat. Diagn.*, 1996, 16(4), 289–298.
- [7] Palomaki, G. E., Kloza, E. M., Lambert-Messerlian, G. M., et al.: DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet. Med.*, 2011, 13(11), 913–920.
- [8] Yaron, Y.: The implications of non-invasive prenatal testing failures: review of an under-discussed phenomenon. *Prenat. Diagn.*, 2016, 36(5), 391–396.
- [9] Morain, S., Greene, F. M., Mello, M. M.: A new era in non-invasive prenatal testing. *N. Eng. J. Med.*, 2013, 369(6), 499–501.
- [10] Dennis Lo, Y. M., Chan, L. Y., Lo, K. W., et al.: Quantitative analysis of cell-free Epstein-Barr virus DNA in plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res.*, 1999, 59(6), 1188–1191.
- [11] Yung, T. K., Chan, K. C., Mok, T. S., et al.: Single molecule detection of epidermal growth factor receptor mutations in plasma by microfluidics digital PCR in non-small cell lung cancer patients. *Clin. Cancer Res.*, 2009, 15(6), 2076–2084.
- [12] McBride, D. J., Orpana, A. K., Sotiriou, C., et al.: Use of cancer-specific genomic rearrangements to quantify disease burden in plasma from patients with solid tumors. *Genes Chromosomes Cancer*, 2010, 49(11), 1062–1069.
- [13] Go, A. T., van Vugt, J. M., Oudejans, C. B., et al.: Non-invasive aneuploidy detection using free fetal DNA and RNA in maternal plasma: recent progress and future possibilities. *Hum. Reprod. Update*, 2011, 17(3), 372–382.
- [14] Orozco, A. F., Lewis, D. E.: Flow cytometric analysis of circulating microparticles in plasma. *Cytometry A*, 2010, 77(6), 502–514.
- [15] Napoli, C., Lemieux, C., Jorgensen R.: Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes *in trans*. *Plant Cell*, 1990, 2(4), 279–289.
- [16] Fire, A., Xu, S., Montgomery, M. K., et al.: Potent and specific genetic interference by double stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1998, 391(6669), 806–811.
- [17] Weber, J. A., Baxter, D. H., Zhang, S., et al.: The microRNA spectrum of 12 body fluids. *Clin. Chem.*, 2010, 56(11), 1733–1741.
- [18] Nagy, Z., Igaz, P.: Introduction to microRNAs: Biogenesis, action, relevance of tissue microRNAs in disease pathogenesis, diagnosis and therapy – The concept of circulating microRNAs. In: Igaz, P. (ed.): *Circulating microRNAs in disease diagnostics and their potential biological relevance*. Springer, Basel, 2015, 4–30.
- [19] Kosaka, N., Iguchi, H., Ochiya, T.: Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci.*, 2010, 101(10), 2087–2092.
- [20] Chan, K. C., Zhang, J., Hui, A. B., et al.: Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma. *Clin. Chem.*, 2004, 50(1), 88–92.
- [21] Li, Y., Zimmermann, B., Rusterholz, C., et al.: Size separation of circulatory DNA in maternal plasma permits ready detection of fetal DNA polymorphisms. *Clin. Chem.*, 2004, 50(6), 1002–1011.
- [22] Dennis Lo, Y. M., Chan, K. C., Sun, H., et al.: Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. *Sci. Transl. Med.*, 2010, 2(61), 61ra91.
- [23] Mouliere, F., Robert, B., Arnau Peyrotte, E., et al.: High fragmentation characterizes tumour-derived circulating DNA. *PLoS ONE*, 2011, 6(9), e23418.
- [24] Ellinger, J., Wittkamp, V., Albers, P., et al.: Cell-free circulating DNA: diagnostic value in patients with testicular germ cell cancer. *J. Urol.*, 2009, 181(1), 363–371.
- [25] Jiang, P., Chan, M. W., Chan, K. C., et al.: Lengthening and shortening of plasma DNA in hepatocellular carcinoma patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2015, 112(11), E1317–E1325.
- [26] Zhu Y., Tian, F., Li, H., et al.: Profiling maternal plasma microRNA expression in early pregnancy to predict gestational diabetes mellitus. *Int. J. Gyn. Obstet.*, 2015, 130(1), 49–53.
- [27] Hromadnikova, I., Kotlabova, K., Hympanova, L., et al.: Gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction induce dysregulation of cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNAs in maternal whole peripheral blood. *Thromb. Res.*, 2016, 137, 126–140.
- [28] Zhu, S., Chao, L., Zhu, J., et al.: Identification of maternal serum microRNAs as novel non-invasive biomarkers for prenatal detection of fetal congenital heart defects. *Clin. Chim. Acta*, 2013, 424, 66–72.
- [29] Ma, L., Bajic, B. V., Zhang, Z.: On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biol.*, 2013, 10(6), 924–933.
- [30] Des Andres-Pablo, A., Morillon, A., Wery, M.: LncRNAs, lost in translation or licence to regulate? *Curr. Genet.*, 2016 May 26. DOI: 10.1007/s00294-016-0615-1. [Epub ahead of print]
- [31] Bianchi, D. W., Platt, L. D., Goldberg, J. D., et al.: Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet. Gynecol.*, 2012, 119(5), 890–901.
- [32] Norton, M. E., Brar, H., Weiss, J., et al.: Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2012, 207(2), 137e1–137e8.
- [33] Lench, N., Barrett, A., Fielding, S., et al.: The clinical implementation of non-invasive prenatal diagnosis for single gene disorders: challenges and progress made. *Prenat. Diagn.*, 2013, 33(6), 555–562.
- [34] Sayed, A. S., Xia, K., Yang, T.-L., et al.: Circulating microRNAs: A potential role in diagnosis and prognosis of acute myocardial infarction. *Dis. Markers*, 2013, 35(5), 561–566.
- [35] Kukreja, R. C., Yin, C., Salloum, F. N.: MicroRNAs: new players in cardiac injury and protection. *Mol. Pharmacol.*, 2011, 80(4), 558–564.
- [36] Meder, B., Keller, A., Vogel, B., et al.: MicroRNA signatures in total peripheral blood as novel biomarkers for acute myocardial infarction. *Basic Res. Cardiol.*, 2011, 106(1), 13–23.
- [37] Wang, G. K., Zhu, J. Q., Zhang, J. T., et al.: Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur. Heart J.*, 2010, 31(6), 659–666.
- [38] Devaux, Y., Vausort, M., Goretti, E., et al.: Use of circulating microRNAs to diagnose acute myocardial infarction. *Clin. Chem.*, 2012, 58(3), 559–567.
- [39] Watson, C. J., Gupta, S. K., O'Connell, E., et al.: MicroRNA signatures differentiate preserved from reduced ejection fraction heart failure. *Eur. J. Heart Fail.*, 2015, 17(4), 405–415.
- [40] Ponikowski, P., Voors, A. A., Anker, S. D., et al.: 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. Heart J.*, 2016, 37(27), 2129–2200.
- [41] Clemens, M., Szegedi, Z., Kardos, L., et al.: The Seattle Heart Failure Model predicts survival in patients with cardiac resynchronization therapy: a validation study. *J. Card. Fail.*, 2012, 18(9), 682–687.

- [42] *Melman, Y. F., Shah, R., Danielson, K., et al.*: Circulating microRNA-30d is associated with response to cardiac resynchronization therapy in heart failure and regulates cardiomyocyte apoptosis: A translational pilot study. *Circulation*, 2015, *131*(25), 2202–2216.
- [43] *Liu, Z., Zhou, C., Liu, Y., et al.*: The expression levels of plasma microRNAs in atrial fibrillation patients. *PLoS ONE*, 2012, *7*(9), e44906.
- [44] *McManus, D. D., Lin, H., Tanriverdi, K., et al.*: Relations between circulating microRNAs and atrial fibrillation: data from the Framingham Offspring Study. *Heart Rhythm*, 2014, *11*(4), 663–669.
- [45] *Klattenhoff, C. A., Scheuermann, J. C., Surface, L. E., et al.*: *Braveheart*, a long noncoding RNA required for cardiovascular lineage commitment. *Cell*, 2013, *152*(3), 570–583.
- [46] *Grote, P., Wittler, L., Hendrix, D., et al.*: The tissue-specific lncRNA *Fendrr* is an essential regulator of heart and body wall development in mouse. *Dev. Cell*, 2013, *24*(2), 206–214.
- [47] *Kurian, L., Aguirre, A., Sancho-Martinez, I., et al.*: Identification of novel long noncoding RNAs underlying vertebrate cardiovascular development. *Circulation*, 2015, *131*(14), 1278–1290.
- [48] *Uchida, S., Dimmeler, S.*: Long noncoding RNAs in cardiovascular disease. *Circ. Res.*, 2015, *116*(4), 737–750.
- [49] *Wang, K., Sun, T., Li, N., et al.*: MDRL lncRNA regulates the processing of miR-484 primary transcript by targeting miR-361. *PLoS Genet.*, 2014, *10*(7), e1004467.
- [50] *Zhong, Y., Gao, D., He, S., et al.*: Dysregulated expression of long noncoding RNAs in ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2016, *26*(9), 1564–1570.
- [51] *Rangel, L. B., Sherman-Baust, C. A., Wernyj, R. P., et al.*: Characterization of novel human ovarian cancer-specific transcripts (HOSTs) identified by serial analysis of gene expression. *Oncogene*, 2003, *22*(46), 7225–7232.
- [52] *Gao, Y., Meng H., Liu, S., et al.*: lncRNA-HOST2 regulates cell biological behaviors in epithelial ovarian cancer through a mechanism involving microRNA let-7b. *Hum. Mol. Genet.*, 2015, *24*(3), 841–852.
- [53] *Grier, D. G., Thompson, A., Kwasniewska, A., et al.*: The pathophysiology of *HOX* genes and their role in cancer. *J. Pathol.*, 2005, *205*(2), 154–171.
- [54] *Dahiya, N., Sherman-Baust, C. A., Wang, T. L., et al.*: MicroRNA expression and identification of putative miRNA targets in ovarian cancer. *PLoS ONE*, 2008, *3*(6), e2436.
- [55] *Langbe, R., Norris, L., Saadeh, F. A., et al.*: A novel serum microRNA panel to discriminate benign from malignant ovarian disease. *Cancer Letters*, 2015, *356*(2), 628–636.
- [56] *Katz, B., Tropé, C. G., Reich, R., et al.*: MicroRNAs in ovarian cancer. *Hum. Pathol.*, 2015, *46*(9), 1245–1256.
- [57] *Fu, X., Tian, J., Zhang, L., et al.*: Involvement of microRNA-93, a new regulator of PTEN/Akt signaling pathway, in regulation of chemotherapeutic drug cisplatin chemosensitivity in ovarian cancer cells. *FEBS Letters*, 2012, *586*(9), 1279–1286.
- [58] *Yu, P. N., Yan, M. D., Lai, H. C., et al.*: Downregulation of miR-29 contributes to cisplatin resistance of ovarian cancer cells. *Int. J. Cancer*, 2014, *134*(3), 542–551.
- [59] *Hartman, M., Loy, E. Y., Ku, C. S., et al.*: Molecular epidemiology and its current clinical use in cancer management. *Lancet Oncol.*, 2010, *11*(4), 383–390.
- [60] *Bagnoli, M., Canevari, S., Califano, D., et al.*: Development and validation of a microRNA-based signature (MiROvaR) to predict early relapse or progression of epithelial ovarian cancer: a cohort study. *Lancet Oncol.*, 2016, *17*(8), 1137–1146.

(Nagy Bálint dr.,
Debreccen, Nagyerdei krt. 98., 4032
 e-mail: nagy.balint@med.unideb.hu)

XVIII. kerületben EGYNAPOS SEBÉSZET kiadó

A közel negyed évszázada sikeresen működő ORMOS Intézet újonnan kialakított, mintegy 300 m²-es egynapos sebészeti részlege részben vagy teljes egészében (nagyon kedvező feltételekkel) bérbe vehető, akár egy óra időtartamra is.

A rendelő ÁNTSZ engedéllyel rendelkezik. Tömegközlekedéssel és autóval is könnyen megközelíthető, ingyenes parkolási lehetőség az utcán megoldott.



Érdeklődés esetén bővebb információért kérem, forduljon Parádi Ildikó ügyvezető igazgatóhoz.

Tel.: +36 20 555 1680