

Új, sejtciklus analízisen alapuló áramlási citometriai vizsgálat kidolgozása a méhnyak rákmegelőző állapotainak szűrése céljából

TÓTH ESZTER LILLA

Általános orvos, Osztatlan, 9. félév

Debreceni Egyetem

Általános Orvostudományi Kar

Bevezetés. A méhnyak rákmegelőző állapotainak szűrése hagyományosan onkocitológiai kenetvétellel történik, melynek álnegativitása 15-63%, értékelése szubjektív és időt vesz igénybe. Egy, a méhnyakról vett kenet sejtjeit áramlási citometriával vizsgáló módszer elméletileg hasznos lehet a méhnyak diszplázias állapotainak szűrése céljából.

Célkitűzés. Új, sejtciklus analízisen alapuló áramlási citometriai módszer kidolgozása a méhnyak rákmegelőző állapotainak szűrése céljából.

Módszerek. A sejtciklus analízis során vizsgált sejteket RNáz kezelést követően permeabilizáló ágenst tartalmazó propidium jodid oldattal festettük, majd áramlási citométerrel analizáltuk. A módszer beállítása során akut limfoid leukémiás csontvelői ill. perifériás vérmintákat használtunk pozitív ill. negatív kontrollként. A leletátfordulási idő (turn-around-time; TAT) javítása érdekében a módszert 70%-os etanolos sejt-fixálási lépéssel és anélkül is teszteltük. A szenzitivitás javítása érdekében különböző citométereken (FACS Calibur, FACS Canto II) és különböző szoftverekkel (Modfit 2.0 és 5.0) is teszteltük a módszert. Az alapbeállításokat követően HeLa sejtszuspenziókat is vizsgáltunk. A detektálási határ megállapításához HeLa és perifériás vérből szeparált mononukleáris sejtek hígítási sorait használtuk. A módszert 4 különböző egyén folyadék alapú citológiai transzport közegbe vett méhnyak citológiai mintáján ellenőriztük. Eredmények. Az etanolos sejt-fixálás elhagyása a vizsgálat TAT-ját akár 1 órás időtartamra csökkentette. A különböző citométereken végzett vizsgálatok eredményei jó korrelációt mutattak (Spearman $r=0.87$, $p=0.0009$). A Modfit 5.0 szoftver érzékenyebb kiértékelést tett lehetővé. A detektálási határ 20.000 esemény begyűjtése esetén 1/100 kóros sejtnak adódott. A módszer a folyadék alapú citológiai transzport közegbe vett méhnyak citológiai minták tesztelésére technikailag alkalmasnak bizonyult.

Konklúzió. Az általunk kidolgozott, új, sejtciklus analízisen alapuló áramlási citometriai módszer alkalmas lehet a méhnyak rákmegelőző állapotainak szűrése céljából. A módszer a hagyományos citopatológiai kenet vizsgálathoz képest szenzitívebb, relatíve gyors és objektív analízist tesz lehetővé.

Témavezetők: Dr. Kárai Bettina, egyetemi tanársegéd, DE ÁOK
Dr. Bagoly Zsuzsa, egyetemi adjunktus, DE ÁOK

Endogén PACAP vizsgálata myeloma multiplexes betegek vérplazma mintáiban

TÓTH TÜNDE

Általános orvos, Osztatlan, 10. félév

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

A hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) myelomás betegek vesefunkciójára gyakorolt kedvező hatását és antitumor ágensként való sikeres alkalmazását számos *in vivo*, *in vitro* és klinikai vizsgálatban igazolták. Protektív hatását írták le proximális tubulussejtekben, továbbá olyan jelátviteli folyamatokat befolyásol, melyek szerepet játszanak az osteolyticus csontdestrukció kialakulásában. Hasonlóan a dexametazonhoz, a PACAP a myeloma sejtek növekedését is gátolta.

Kutatásunk célja a myeloma multiplexben szenvedő páciensek plazma PACAP szintjének vizsgálata ELISA módszer segítségével, valamint különböző citokinek (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, MCP-1) vizsgálata Luminex módszer alkalmazásával ($n=47$; kontroll: $n=10$). Arra kerestünk választ, hogy a klinikai paraméterektől függően változik-e az endogén PACAP szintje, illetve különböző citokinekkel korreláltható-e az értéke.

A kezelt myelomás betegek körében alacsonyabb PACAP szinteket mértünk az egészséges kontroll csoporthoz viszonyítva. A jobb performance státuszú, alacsonyabb plazmasejtarányú és a remissziót követően autológ őssejt-transzplantációra alkalmas betegek körében szignifikánsan magasabb értékeket detektáltunk. Az őssejt gyűjtési folyamat előrehaladtával emelkedő szinteket mértünk. Anaemiás betegekben alacsonyabb, míg VRD (bortezomib-lenalidomid-dexametazon) terápiában részesült pácienseknél magasabb szinteket találtunk. Luminex vizsgálatok során a betegeknél szignifikánsan magasabb IL-10 és MCP-1 szinteket detektáltunk az egészséges kontrollokhoz viszonyítva.

A myelomás betegekben detektálható alacsonyabb PACAP szint, valamint aktív betegség esetében további szignifikáns csökkenése megerősíti azt a feltételezést, hogy a peptidnek fontos szerepe lehet ezen betegségben. A remisszióban lévő, jobb performance státuszú, alacsonyabb plazmasejtarányú betegek emelkedett PACAP szintjéből egyértelműen következnek a transzplantációra alkalmas betegek magasabb értékei is. Az őssejt gyűjtés során, anaemiás és VRD terápiában részesült betegek esetében a PACAP szint változás pontos oka még nem ismert, ezért a patomechanizmus feltérképezésére további vizsgálatokat tervezünk.

Témavezetők: Dr. Tamás Andrea, egyetemi docens, PTE ÁOK
Dr. Családi Renáta, klinikai szakorvos, PTE KK