

Antifoszfolipid antitestek és a β 2-glikoprotein I különböző konformációi közötti interakció vizsgálata

TORNER BERNADETT

Orvosi laboratóriumi és képkalkáló diagnosztikai analitikus BSc, BSc, 7. félév

Debreceni Egyetem

Általános Orvostudományi Kar

Bevezetés: Az antifoszfolipid szindróma (APS) egy szisztémás autoimmun betegség, melyben az autoantitestek foszfolipideket kötő fehérjék ellen irányulnak. Az APS-re jellemzőek trombotikus események és/vagy terhességi komplikációk. Az autoantitestek fő antigénje a szabadon és lipidekhez kötött formában is keringő β 2-glikoprotein I (β 2GPI), melynek két különböző konformációját írták le. Fiziológiai szerepük csak részben tisztázott.

Célkitűzés: Célul tűztük ki, hogy APS-ben szenvedő betegek szérumból ($n=5$) antifoszfolipid antitesteket és egészséges donorok plazmájából β 2GPI-t izoláljunk, majd megvizsgáljuk a β 2GPI konformációi és az antitestek közötti interakciót, továbbá jellemezzük a β 2GPI heparinnal való kölcsönhatását. Célunk volt továbbá nanoDSF módszerrel a különböző konformációjú β 2GPI formák stabilitását egymással összehasonlítani, illetve az eltérő konformációkat transzmissziós elektronmikroszkóppal megvizsgálni.

Anyagok és módszerek: Az antifoszfolipid antitestek és a β 2GPI izolálása kromatográfiai módszerrel történt, melynek tisztaságát Western-blottal vizsgáltuk. A β 2GPI-et nyílt és zárt konformációjúvá alakítottuk, aminek a hatékonyságát Jeol 1010 típusú elektronmikroszkóppal igazoltuk. Az SPR vizsgálatokat Biacore X készüléken végeztük. A nyílt és zárt β 2GPI stabilitását nanoDSF-fel vizsgálva hasonlítottuk össze Prometheus NT.48 készüléken.

Eredmények: Megvizsgáltuk az individuális SPR chipekre immobilizált, különböző betegekből származó anti- β 2GPI antitestek β 2GPI-gyel való kölcsönhatását. Mind a zárt, mind a nyílt β 2GPI-gyel való kölcsönhatást erős affinitás jellemez (KD -értékek rendre $5,17 \times 10^{-8}$ M és $5,56 \times 10^{-8}$ M). Heparinnal szemben a β 2GPI nyílt konformációja egy nagyságrenddel ($KD=0,3 \times 10^{-6}$ M) erősebb affinitást mutatott, mint a zárt ($KD=3,50 \times 10^{-6}$ M). A stabilitásvizsgálat során a β 2GPI különböző koncentrációinál meghatározott T_m -értékek átlaga azonosnak bizonyult ($61,9^\circ\text{C}$) az eltérő konformációk esetében.

Megbeszélés: A β 2GPI eltérő konformációi azonos affinitással kötődnek az antitestekhez. A nyílt konformációjú β 2GPI erősebb interakciót alakít ki a heparinnal, mint a zárt. A β 2GPI különböző konformációinak stabilitásában nincs eltérés.

Témavezetők: Dr. Pénzes-Daku Krisztina, egyetemi adjunktus, DE ÁOK

Dr. Szabó Gábor, PhD hallgató, DE ÁOK

Melanoma malignum sebészi széleinek műtét előtti vizsgálata multispektrális LED-alapú eszköz használatával

VARGA NOÉMI NÓRA

Általános orvos, Osztatlan, 8. félév

Semmelweis Egyetem

Általános Orvostudományi Kar

Bevezetés: A melanoma operációja során a műtét szegély megválasztása nagy körülményt igénylő feladat a napi orvosi gyakorlatban. Ebben a gyakorló orvos számára a klinikai kép és a szövettan, azon belül is elsősorban a Breslow-féle tumorvastagság ad segítséget. Azonban sok esetben a klinikum alapján a szövettan nehezen megítélhető, így a műtét után reoperációra lehet szükség.

Célkitűzés: Jelen kutatásunkban 4 LED fényt használtunk egy okostelefon kamerájával működő kézi képkalkáló eszközzel, hogy megvizsgáljuk a tumorok optikai paramétereit és összevessük a Breslow-féle tumorvastagsággal.

Eszközök és módszerek: A képkalkálást Semmelweis Egyetem Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinikáján végeztük, a Lettországi Egyetem Atomfizikai és Spektroszkópiai Intézetének Biofizikai Laboratóriuma által kifejlesztett eszközzel. A klinikánkra érkező páciensek közül 93 melanomában szenvedő beteg bőrelváltozásait vizsgáltuk. A vizsgálatban használt multispektrális eszköz 4 különböző LED fényt használ fel, amelyek a bőr különböző mélységű rétegeibe hatolnak be. Ezekről a csatornákról készült képeket ImageJ szoftverrel elemeztük. Megmértük az Integrált Optikai Densitásokat (IOD), összehasonlítottuk azok arányát, illetve korreláltattuk egymással az intenzitásértékeket a Breslow-féle tumorvastagságokkal.

Eredmények: Jelen kutatásunkban a Breslow-féle tumorvastagság szerint csoportosított melanomák elkülönültek a fentebb vizsgált paraméterek alapján. A különböző intenzitásértékek közül a piros és a zöld csatorna alkalmasnak bizonyult arra, hogy elkülönítse egymástól az elváltozásokat, és ezekben a csatornában szignifikáns különbséget találtunk.

Következtetések: Az eszköz által készített képek alkalmasnak bizonyultak arra, hogy elkülönítsünk egymástól két csoportot: az 1 mm alatti és az 1 mm feletti tumorvastagságokat. A mélységi paraméterek tudatában lehetőség nyílik egy ép biztonsági zóna megtervezésére a műtét beavatkozás előtt. Egy ilyen eszköz érzékenysége még nem olyan magas, mint a szövettani Breslow-féle tumorvastagság, de egy pontos képet adhat a daganatról, és a sebészi szélek megfelelő megválasztásában segítheti a napi gyakorlatot.

Témavezetők: Dr. Medvecz Márta, egyetemi docens, SE ÁOK
Dr. Wikonkál Norbert, egyetemi tanár, SE ÁOK