

Plazmából izolált extracelluláris vezikulák Raman spektroszkópiai vizsgálata tumordiagnosztikai célból



Nagy Valentina^{1,2}, Bukva Mátyás^{1,2,3}, Gyukity-Sebestyén Edina^{1,2}, Böröczky Tímea^{1,2,3}, Yasmin Ranjous⁴, Harmati Mária^{1,2}, Dobra Gabriella^{1,2,3}, Szivos László⁵, Hideghéty Katalin^{6,7}, Budai Krisztina⁸, Horváth Péter¹, Lázár György⁸, Barzó Pál⁵, Kónya Zoltán⁴, Klekner Álmós⁹, Buzás Krisztina^{1,2}

¹Szegei Biológiai Kutatóközpont, Mikroszkópos Képfeldolgozó és Gépi Tanulási Csoport, ²Szegei Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, ³Szegei Tudományegyetem, Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola, ⁴Szegei Tudományegyetem, Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék, ⁵Szegei Tudományegyetem, Idegsebészeti Klinika, ⁶ELI-ALPS, ELI-HU Non-Profit Kft, ⁷Szegei Tudományegyetem, Onkoterápiás Klinika, ⁸Szegei Tudományegyetem, Sebészeti Klinikai, ⁹Debreceni Egyetem, Idegsebészeti Klinika

BEVEZETÉS

A tumordiagnosztikai kutatások egyik fő iránya a nem-invazív, folyadékbiopszia alapú diagnosztikai módszerek fejlesztése. A különböző testfolyadékokban, így a vérben is megtalálható kisméretű extracelluláris vezikulák (sEV-k) egyre nagyobb teret kapnak a tumordiagnosztikai kutatásokban. Szekréciójuk során a sejt típusától függően számos fehérje, lipid, nukleinsav és transzkripció faktor csomagolódik a vezikulákba. Ezáltal a sEV-k molekuláris mintázata jól tükrözi az azt kibocsájtó sejtet és annak fiziológiás állapotát. A sEV izolátumok teljes molekuláris mintázata jól vizsgálható olyan rezgési spektroszkópiai módszerekkel, mint a Raman spektroszkópia. Kutatásunk célja megvizsgálni, hogy a különböző tumoros betegek vérplazmájából izolált sEV-k Raman spektruma alapján elkülöníthetők-e a vizsgált betegcsoportok.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

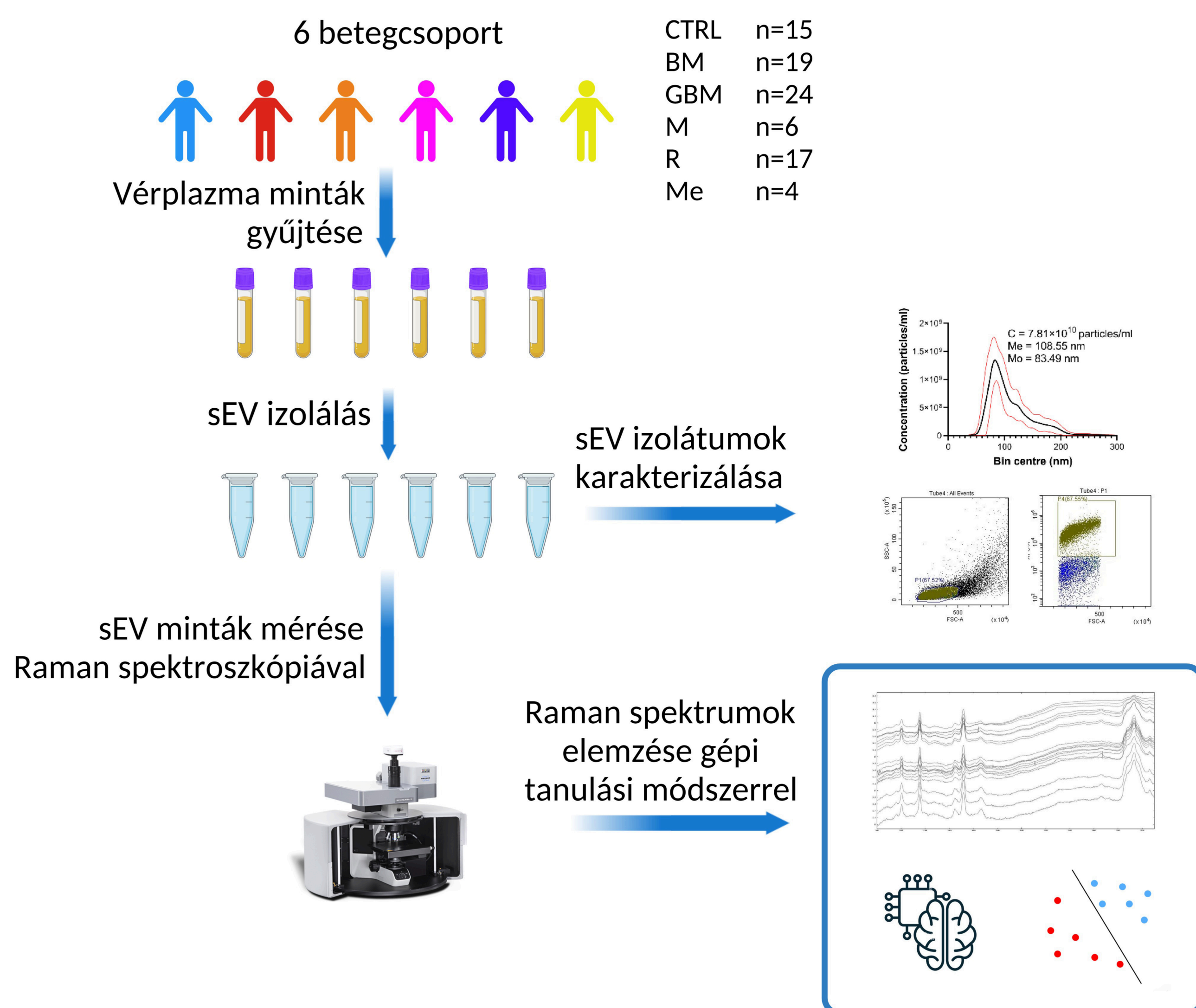
A kutatás során összesen 82 plazma mintát vizsgáltunk meg hat betegcsoportból: nem-kissejtes tüdődaganat agyi metasztázisa (BM), glioblastoma multiforme (GBM), meningeóma (M), vastagbél daganat (R), melanóma (Me) és lumbális porckorongsér, mint tumormentes kontroll (CTRL).

A sEV-ket differenciál centrifugálással izoláltuk, nanoparticle tracking analysis (NTA) és fluoreszcens áramlási citometria módszerekkel karakterizáltuk.

A Raman spektrumokat Senterra II mikroszkóppal (Burker) mértük le, visszaszórásos elrendezést használva. Egy mintáról 5 spektrum felvételt készítettünk.

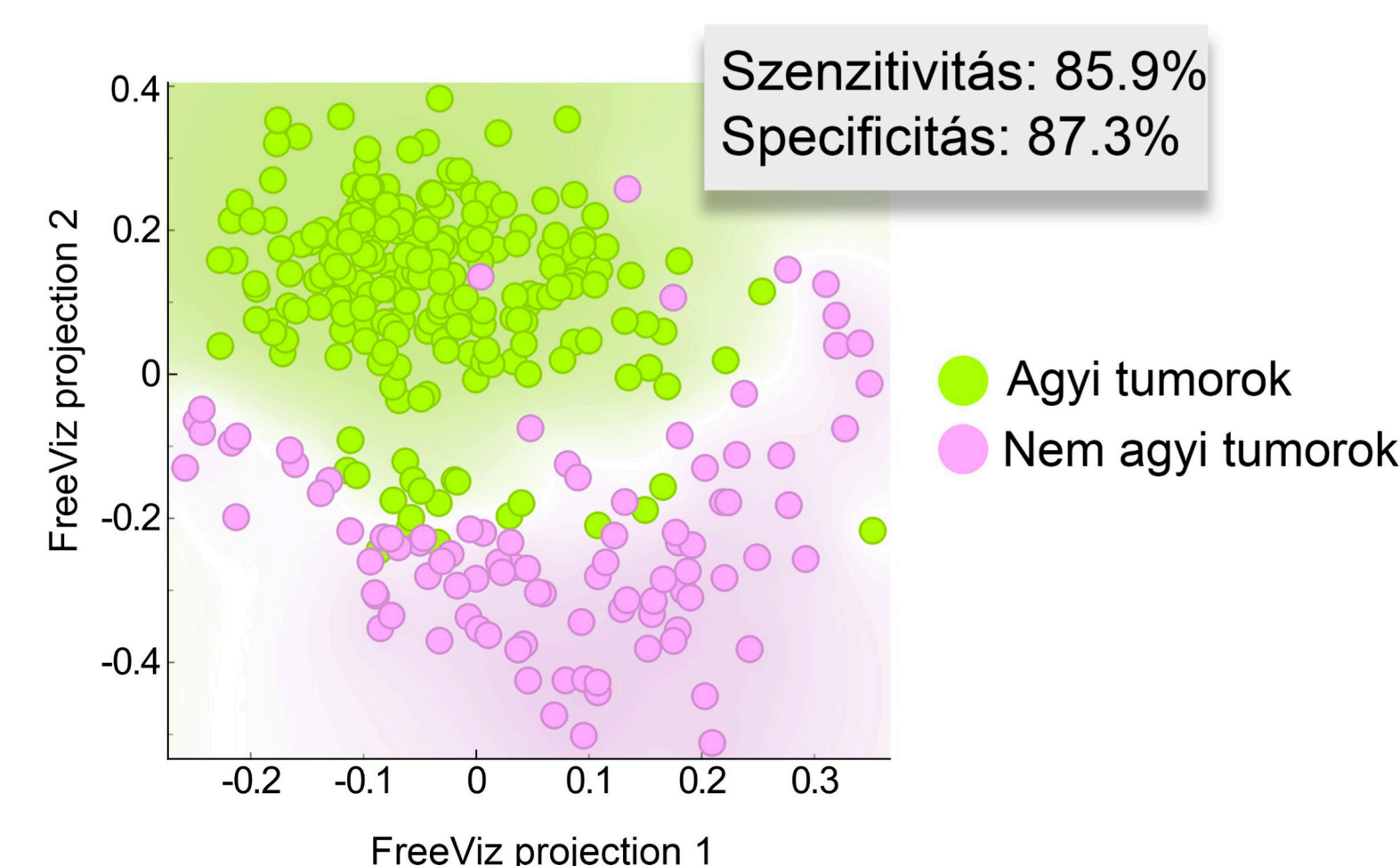
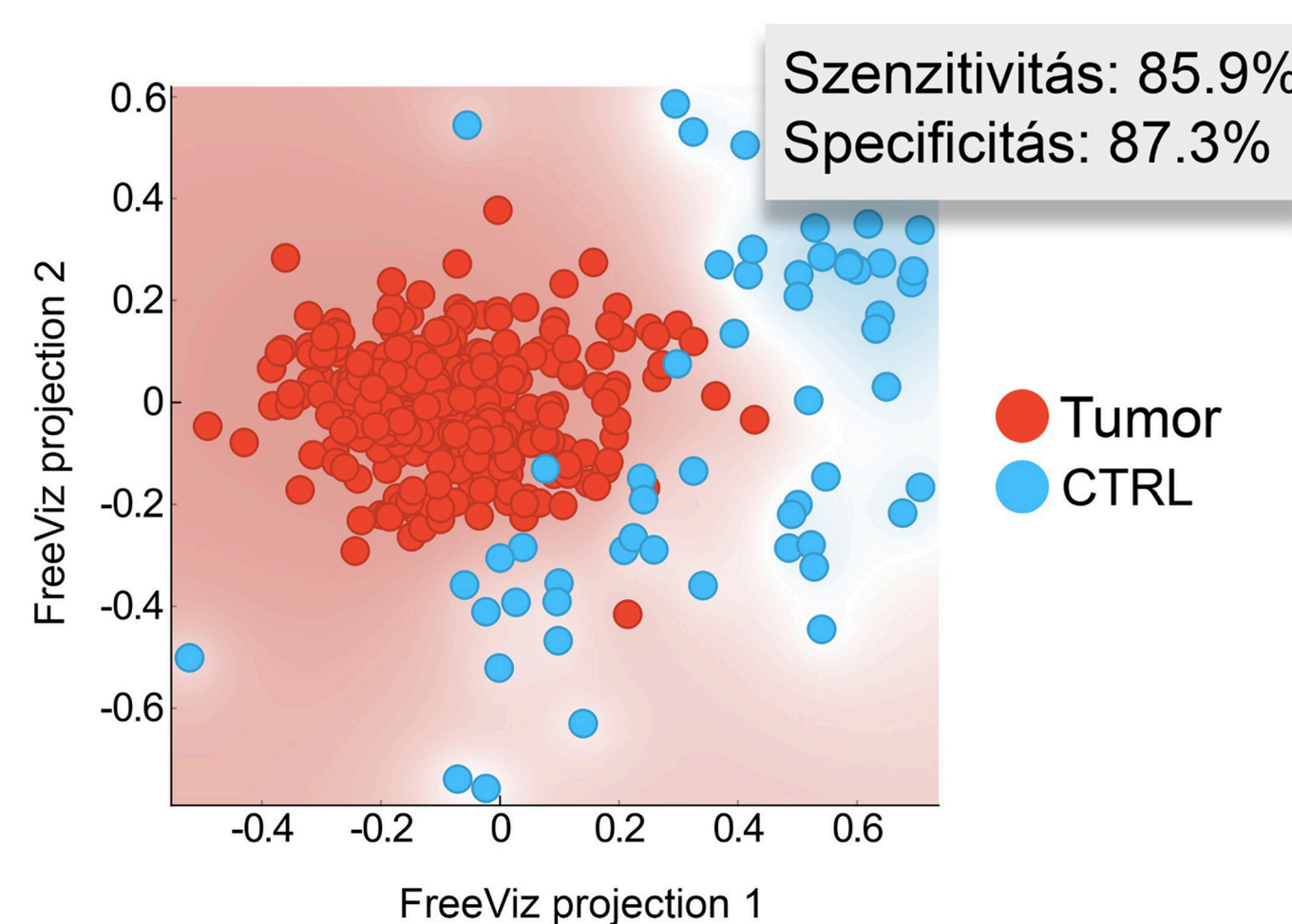
A mért Raman spektrumok analíziséhez Principal Component Analysis-Support Vector Machine (PCA-SVM) algoritmust használtunk. A klasszifikáció hatékonyságát szenzitivitás és specifitás értékekkel jellemeztük.

Kísérleti elrendezés

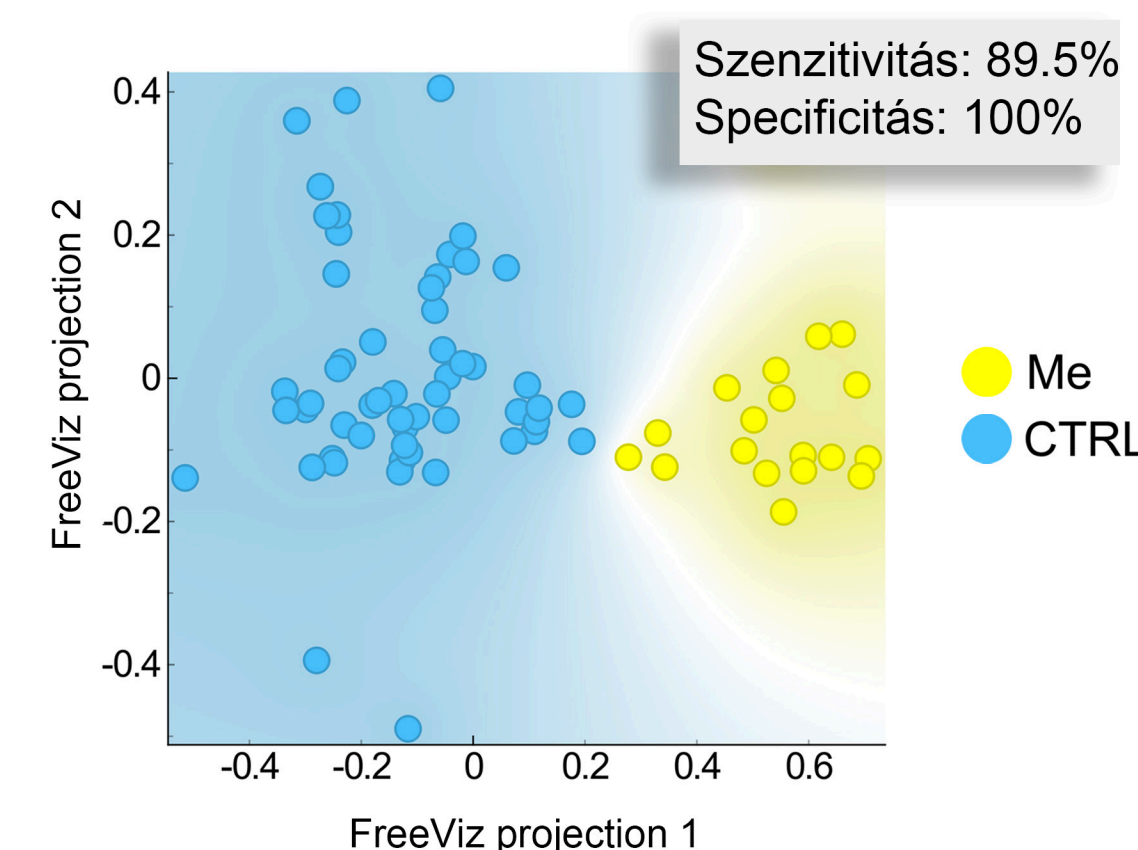
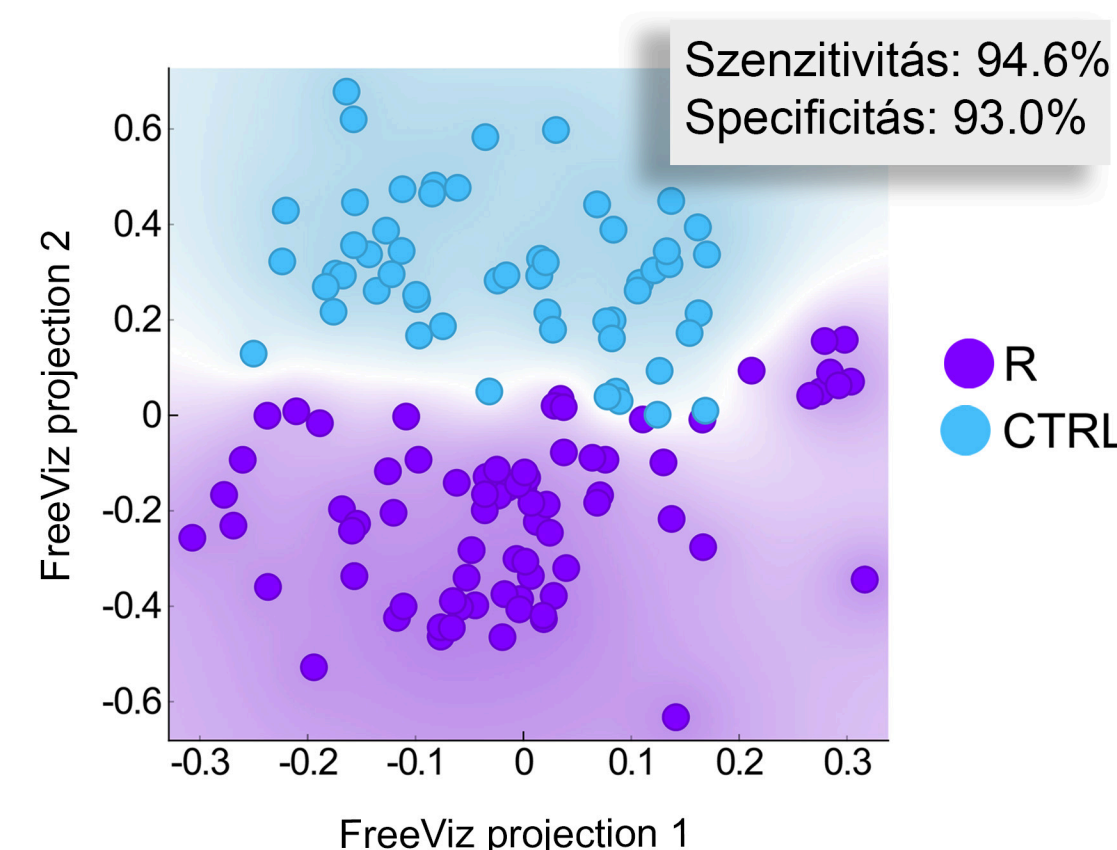
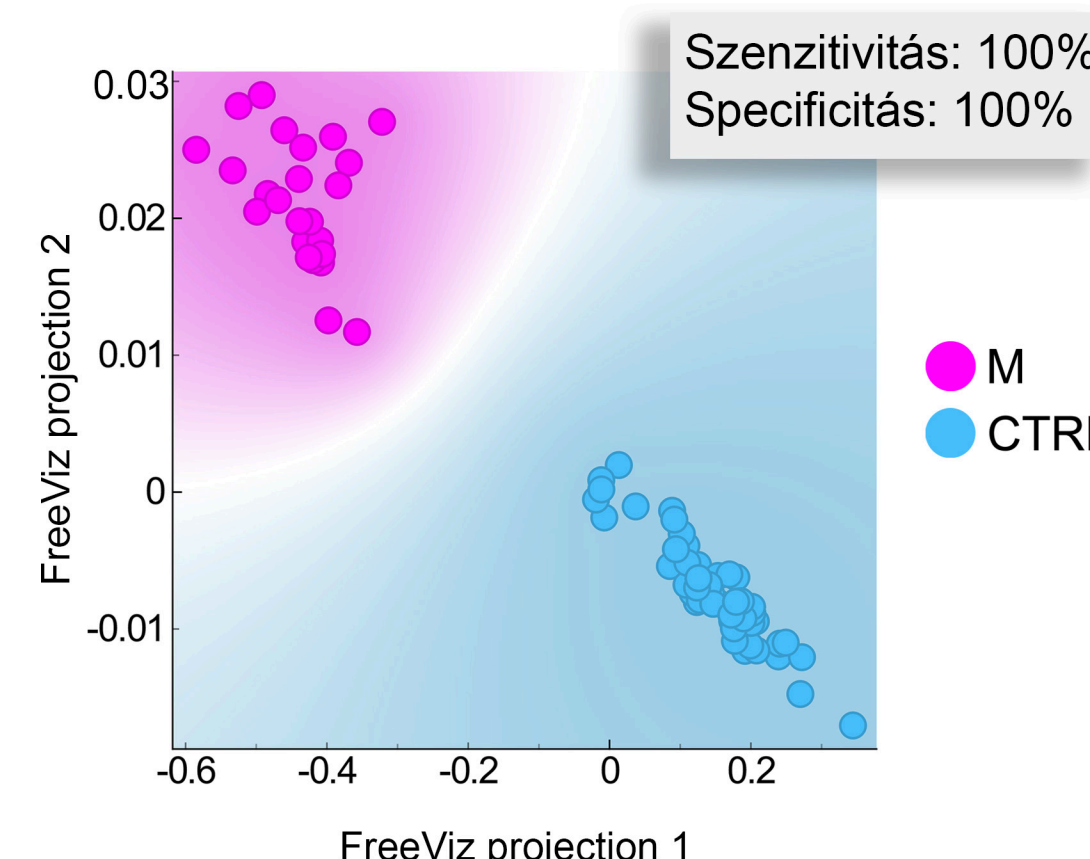
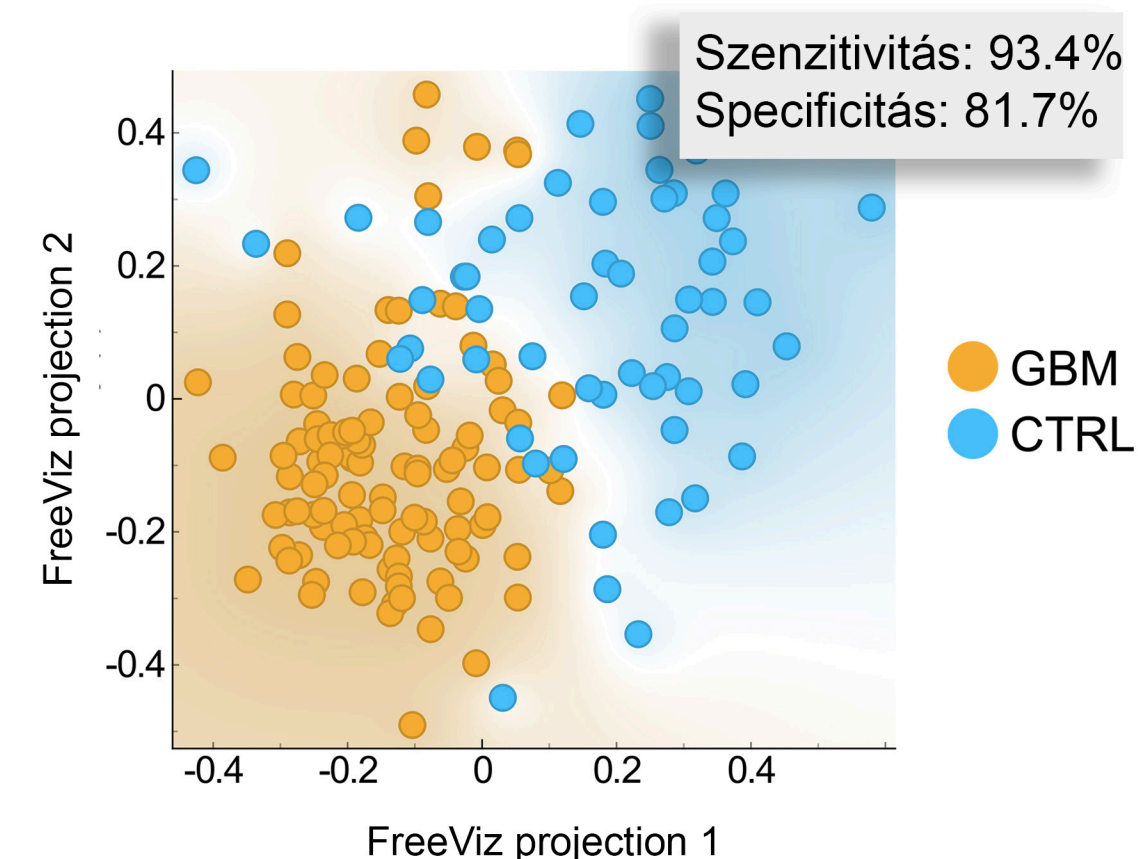
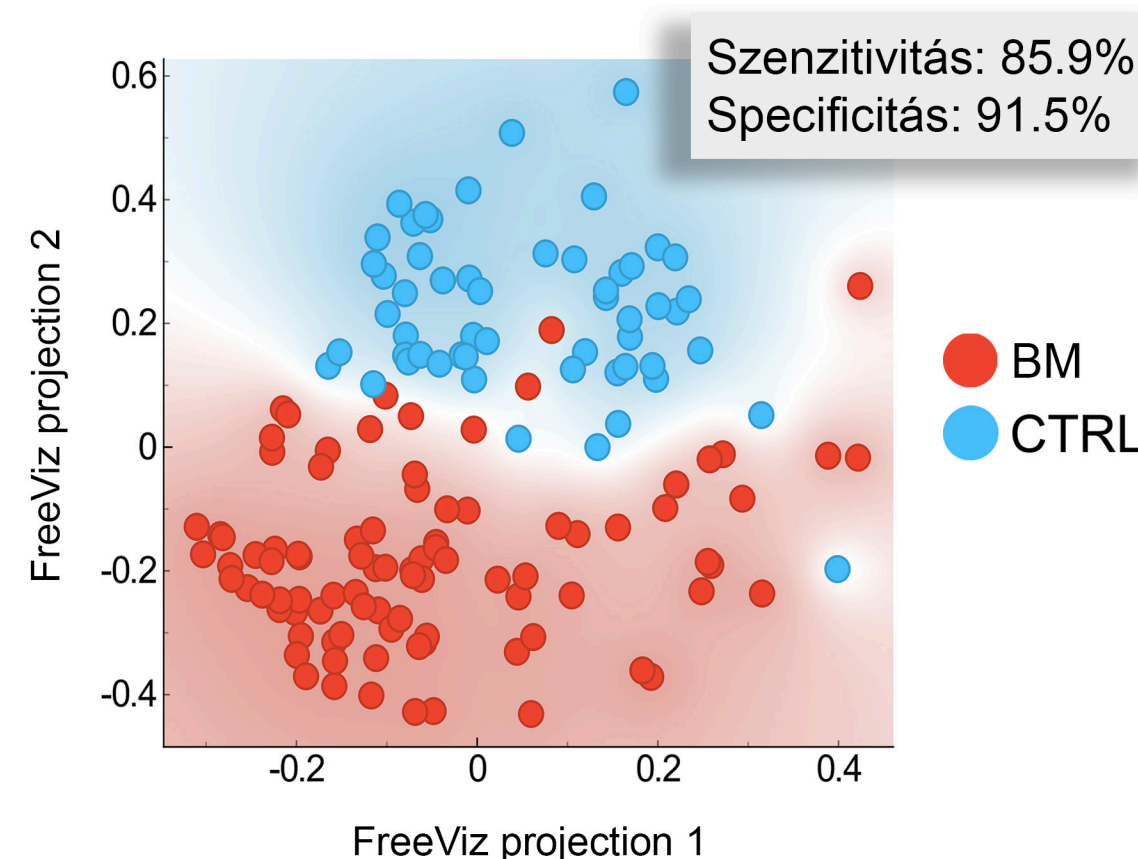


EREDMÉNYEK

1. A tumoros betegek mintái jól elkülöníthetők a kontroll mintáktól.
2. Az agyi és nem agyi tumorok között jelentős különbségek detektálhatók.
3. Az SVM modellel való klasszifikáció alapján a vizsgált betegcsoportok magas szenzitivitással és specifitással különböztethetők meg.



3. Az SVM modellel való klasszifikáció alapján a vizsgált betegcsoportok magas szenzitivitással és specifitással különböztethetők meg.



DISZKUSSZIÓ

Az eredményeink alapján az összehasonlított csoportok 85-100%-os szenzitivitással és 81-100%-os specifitással különböztethetők meg egymástól. A kontroll csoport elválaszthatónak bizonyult az összes tumortípustól összevonva, illetve a daganatos csoportokat külön-külön kezelve is. A klasszifikációs modell segítségével az agyi és nem agyi tumorok között is különbséget tudtunk tenni.

Ezen eredmények ígéretesek, azonban érdemes megjegyezni, hogy az analízisek során a minták párhuzamos méréseit használtuk fel, nem a spektrumok átlagát. Erre azért volt szükség, hogy az SVM algoritmusához kellő adat álljon rendelkezésre.

További terveink között szerepel az adatbázis bővítése új mintákkal. Ezenkívül szeretnénk megvizsgálni, hogy a sEV-k Raman spektrumának analízise alkalmas módszer-e a betegség lefolyásának nyomon követésére. A kutatásunk fő célja az itt leírt vizsgálati módszer továbbfejlesztése klinikai tumordiagnosztikai alkalmazásra.

Dobra G, Bukva M, Szabo Z, Bruszel B, Harmati M, Gyukity-Sebestyén E, Jenei A, Szucs M, Horvath P, Biro T, Klekner A, Buzas K. Small Extracellular Vesicles Isolated from Serum May Serve as Signal-Enhancers for the Monitoring of CNS Tumors. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(15):5359. <https://doi.org/10.3390/ijms21155359>

Harmati, M., Gyukity-Sebestyén, E., Dobra, G., Janovak, L., Dekany, I., Saydam, O., Hunyadi-Gulyas, E., Nagy, I., Farkas, A., Pankotai, T., Ujfaludi, Z., Horvath, P., Piccinini, F., Kovacs, M., Biro, T., & Buzas, K. (2019). Small extracellular vesicles convey the stress-induced adaptive responses of melanoma cells. *Scientific Reports*, 9(1), 1–19. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51778-6>

Bukva M, Dobra G, Gomez-Perez J, Koos K, Harmati M, Gyukity-Sebestyén E, Biro T, Jenei A, Kormondi S, Horvath P, Konya Z, Klekner A, Buzas K. Raman Spectral Signatures of Serum-Derived Extracellular Vesicle-Enriched Isolates May Support the Diagnosis of CNS Tumors. *Cancers*. 2021; 13(6):1407. <https://doi.org/10.3390/cancers13061407>

Created with BioRender Poster Builder



OTKA K143255
Szent-Györgyi Albert Kutatási Alap
TKP2021-EGA09A
KULTURÁLIS ÉS INNOVÁCIÓS MINISZTERIUM ÚNKP-22-2 KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAMJÁNAK A NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI ÉS INNOVÁCIÓS ALAPBÓL FINANSZÍROZOTT SZAKMAI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.

