

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Badania proteomiczne raka endometrium

Tomasz Kluz

Poznań 2018

Recenzent
Prof. dr hab. Marek Spaczyński

Skład komputerowy
Beata Łakomiak

Korekta
Barbara Błażejczak

Projekt okładki
Bartłomiej Wąsiel

© Copyright by Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu,
Poznań 2018

ISBN 978-83-7597-332-7

WYDAWNICTWO NAUKOWE UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU
60-812 Poznań, ul. Bukowska 70
www.wydawnictwo.ump.edu.pl

Ark. wyd. 5,0. Ark. druk. 10,8.
Format B5. Zam. nr 37/18.
Druk ukończono w marcu 2018 r.

SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW	5
WSTĘP	9
1. Proteomika i metabolomika	11
1.1. Metody stosowane w badaniach proteomicznych	13
1.2. Zastosowanie badań proteomicznych w praktyce klinicznej	17
2. Rak błony śluzowej trzonu macicy	18
2.1. Rak endometrium – czynniki ryzyka	18
2.2. Rak endometrium – patogeneza i histologia	19
2.3. Rak endometrium – typy genomiczne	21
2.4. Rak endometrium – klasyfikacja kliniczna	22
2.5. Rak endometrium – biomarkery	24
2.6. Rak endometrium – leczenie	25
2.7. Rak endometrium – rokowanie	25
2.8. Rak endometrium – genetyczne markery rozsiewu	26
2.9. Rak endometrium – badania proteomiczne	26
3. Biomarkery angiogenezy	28
CEL BADAŃ	33
MATERIAŁ I METODYKA	34
1. Materiał	34
2. Metodyka	35
2.1. Odczynniki - wykaz	35
2.2. Profilowanie peptydowo-białkowe z wykorzystaniem spektrometrii MALDI-TOF-MS	36
2.3. Identyfikacja peptydów w oparciu o technikę nLC-MALDI-TOF/TOF- MS/MS	39
2.4. Oznaczanie panelu markerów białkowych w surowicy z wykorzystaniem metody separacji magnetycznej i cytometrii przepływowej	40
WYNIKI	42
1. Profilowanie peptydowo-białkowe z wykorzystaniem spektrometrii MALDI- TOF-MS	42
2. Identyfikacja peptydów w oparciu o technikę nLC-MALDI-TOF/TOF-MS/MS	46
3. Oznaczanie panelu markerów białkowych w surowicy z wykorzystaniem metody separacji magnetycznej i cytometrii przepływowej	64
DYSKUSJA	89
WNIOSKI	103
BIBLIOGRAFIA	104
ANEKS	123

WYKAZ SKRÓTÓW

- ANXA2 – aneksyna A2 (ang. *Annexin A2*)
- AUC – pola pod krzywą ROC (ang. *Area under the ROC curve*)
- BMI – indeks masy ciała (ang. *Body Mass Index*)
- COX-2 – cyklooksygenaza -2 (ang. *cyclooxygenase-2*)
- DNA – kwas dezoksyrybonukleinowy (ang. *deoxyribonucleic acid*)
- EC – rak endometrium (ang. *endometrial cancer*)
- EGFR – receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu (ang. *epidermal growth factor receptor*)
- EIC – wewnątrz nabłonkowy rak endometrium (ang. *endometrial intraepithelial carcinoma*)
- EIN – wewnątrz nabłonkowa neoplazja endometrium (ang. *Endometrium intraepithelial neoplasia*)
- ESI – elektrorozpylanie (ang. *Elektrospray*)
- Fas – antygen Fas (ang. *sFas – soluble Fas*)
- FDA – Agencja Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*)
- FGF-basic, FGF2 – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *basic fibroblast growth factor*)
- FIGO – Międzynarodowa Federacja Ginekologów i Położników (fr. *Fédération internationale de gynécologie et d'obstétrique*, ang. *The International Federation of Gynecology and Obstetrics*)
- Fit-1 – receptor dla VEGF (ang. *fms-like tyrosine kinase*)
- FST – folistatyna (ang. *Follistatin*)
- GA – algorytm genetyczny (ang. *genetic algorithm*)
- G-CSF – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (ang. *granulocyte colony stimulating factor*)
- HCCA – kwasu α -cyjano-4-hydroksycynamonowy (ang. *α -cyano-4hydroxycinnamic acid*)
- HE4 – podfrakcja 4 ludzkiego białka z komórek nabłonkowych jądra (ang. *human epididymis protein 4*)
- HER2 – receptor ludzkiego nabłonkowego czynnika wzrostu (ang. *human epidermal receptor 2*)
- HGF – czynnik wzrostu hepatocytów (ang. *hepatocyte growth factor*)
- HIF – czynnik indukowany hipoksją (ang. *Hypoxia Induced Factor*)
- HPLC – wysokosprawny chromatograf cieczowy typu nLC (ang. *high performance liquid chromatograph*)

KDR – receptor dla VEGF (ang. *kinase insert domain receptor*)
 L1CAM – neuronalna cząsteczka adhezyjna L1 (ang. *Cell Adhesion Molecule*)
 LIFT – technologią optyki jonowej (nazwa własna) można zamiennie nazywać trybem MS/MS lub metodą MS/MS
 MALDI–TOF – jonizacja przez desorpcję laserem przy udziale matrycy (ang. *Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation*) z użyciem analizator czasu przelotu (ang. *Time Of Flight*)
 MALDI – jonizacja przez desorpcję laserem przy udziale matrycy (ang. *Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation*)
 MAPK – kinazy aktywowane mitogenami (ang. *Mitogen-activated protein kinase*)
 MCSF1 – czynnik stymulujący kolonię makrofagów 1 (ang. *macrophage colony-stimulating factor 1*)
 mRNA – przekaźnikowy RNA (ang. *messenger RNA*)
 MS – spektroskopia mas (ang. *mass spectroscopy*)
 MSI – niestabilność mikrosatelitarna (ang. *microsatellite instability*)
 MSMCO – supresja matrycy (ang. *matrix suppression mass cut off*)
 m/z – stosunek masy do ładunku
 Narodowy Instytut Raka (NCI) – dział amerykańskiej rządowej agencji National Institutes of Health (ang. *National Cancer Institute*)
 OPN – osteopontyna (ang. *osteopontin*)
 PCA – analiza głównych składowych (ang. *principal component analysis*)
 PDGF-AB/BB – płytkopochodny czynnik wzrostu – heterodimer zbudowany z łańcucha A i łańcucha B/homodimer zbudowany z dwóch łańcuchów B (ang. *platelet-derived growth factor AB and BB*)
 PECAM-1) – płytkowo-śródbłonkowe białko adhezyjne 1 (ang. *Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1*)
 PGF – łożyskowy czynnik wzrostu (ang. *placenta growth factor*)
 PI3K/Akt – kinaza fosfatydyloinozytolu (ang. *Phosphoinositide 3-kinase*)
 PIE – pulsacyjna ekstrakcja jonów (ang. *pulsed ion extraction*)
 PLS-DA – regresja metodą cząstkowych najmniejszych kwadratów (ang. *partial least squares – discriminant analysis*)
 POLE – grupa polimerazy DNA ε (akronim)
 QC – szybki klasyfikator (ang. *quick classifier*)
 RNA – kwas rybonukleinowy (ang. *ribonucleic acid*)
 ROC – krzywa oceny jakości klasyfikatora (ang. *Receiver operating characteristic*)
 SCF – czynnik komórek macierzystych (ang. *stem cell factor*)
 sEGFR – rozpuszczalny receptor naskórkowego czynnika wzrostu (ang. *soluble epidermal growth factor receptor*)

sHER2/neu – rozpuszczalny receptor kinazy tyrozynowej erb-2 (ang. *soluble Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*)
 SELDI-TOF MS – spektrometria mas z jonizacją laserową wzmocnioną powierzchniowo i z detektorem czasu przelotu (ang. *surface-enhanced laser desorption ionization – time of flight – mass spectrometry*)
 sIL-6Ra – rozpuszczalny receptor α interleukiny 6 (ang. *soluble form of the IL-6 receptor*)
 SIBLING – rodzina nie kolagenowych białek (ang. *small integrin binding ligand N-linked glycoprotein*)
 SNN – nadzorowaną sieć neuronową (ang. *supervised neural network*)
 SPE – technika ekstrakcji do fazy stałej (ang. *solid phase extraction*)
 STAT – wewnątrzkomórkowe czynniki transkrypcji (ang. *Signal Transducer and Activator of Transcription*)
 sTie-2 – rozpuszczalny receptor dla angiopoetyny (ang. *Soluble angiopoetin receptor*)
 sVEGFR-1 – rozpuszczalny receptor 1 naczyniowo-śródnabłonkowego czynnika wzrostu (ang. *soluble vascular endothelial growth factor receptor-1*)
 sVEGFR-2 – rozpuszczalny receptor 2 naczyniowo-śródnabłonkowego czynnika wzrostu (ang. *soluble vascular endothelial growth factor receptor-2*)
 TCGA – atlas genomu raka (ang. *The Cancer Genome Atlas*)
 TFA – kwas trifluorooctowy (ang. *Trifluoroacetic acid*)
 TGF- β – transformujący czynnik wzrostu beta (ang. *transforming growth factor β*)
 Th – (Thomson) – jednostka stosunku masy do ładunku
 TOF – analizator czasu przelotu (ang. *Time Of Flight*)
 VEGF – rozpuszczalny czynnik wzrostu śródnabłonka naczyń (ang. *soluble vascular endothelial growth factor*)
 VIP – ranking wartości (ang. *variable importance in projection*)
 α - s-IL-6R α – podjednostka α rozpuszczalnego receptora interleukiny 6 (ang. *Soluble interleukin 6 receptor*)