

Metabolomiczna analiza tkanki, surowicy i moczu w poszukiwaniu potencjalnych biomarkerów raka pęcherza moczowego

Słowa kluczowe: rak pęcherza moczowego, metabolomika, biomarkery, spektrometria mas, NMR

Praca doktorska pt. "Metabolomiczna analiza tkanki, surowicy i moczu w poszukiwaniu biomarkerów raka pęcherza moczowego" stanowi cykl 5 artykułów opublikowanych w czasopismach posiadających wskaźnik impact factor. Jestem pierwszym autorem trzech publikacji oraz współautorem pozostałych dwóch. Temat pracy doktorskiej porusza zagadnienie metabolicznych biomarkerów nowotworowych raka pęcherza moczowego które mogłyby być potencjalnie wykorzystywane w praktyce klinicznej.

Artykuły przedstawiają metabolomiczną analizę tkanki nowotworowej, surowicy i moczu pochodzącej od 100 pacjentów z rakiem pęcherza moczowego w porównaniu z tkanką, surowicą i moczem kontrolnym pochodzących od 100 pacjentów z innymi, łagodnymi, schorzeniami w obrębie dróg moczowych. Zastosowane techniki analityczne obejmują wysokiej rozdzielczości ^1H NMR, ICP-OES i wysokiej rozdzielczości laserową desorpcję/ionizację MS (LDI-MS) opartą na nanocząstkach złota i srebra oraz spektrometrię mas o ultra-wysokiej rozdzielczości (UHRMS) w połączeniu z ultra-wysokosprawną chromatografią cieczową (UHPLC). Wielowymiarowa analiza statystyczna i analiza krzywej ROC pozwoliły na kompleksową ocenę potencjału diagnostycznego zidentyfikowanych metabolitów. Połączenie poziomów tych metabolitów poprawiło rozróżnienie między materiałem biologicznym pochodzącym od pacjentów z rakiem pęcherza moczowego w porównaniu z kontrolą, sugerując, że uwzględnienie wielu biomarkerów może być kluczowe dla precyzyjnej diagnozy. Dodatkowo analiza NMR próbek surowicy pozwoliła na wyselekcjonowanie metabolitów, które odróżniają raka NMIBC i MIBC oraz metabolitów różnicujących stopień złośliwości histopatologicznej (LG vs. HG). Wysokie wartości obszarów pod krzywymi ROC wskazują na potencjalne zastosowanie kliniczne tych metabolitów jako narzędzi diagnostycznych w przypadku raka pęcherza moczowego

Analizując dane z obrazowania MS, wyselekcjonowano 10 metabolitów różnicujących próbki tkanki nowotworowej od zdrowej, które wykazały wysoką dokładność diagnostyczną w analizie krzywej ROC, każdy z polem pod krzywą AUC >0.99. Analiza szlaków pozwoliła na umiejscowienie tych metabolitów w 17 różnych szlakach metabolicznych.

Analiza surowicy z zastosowaniem metody ^1H NMR pozwoliła na identyfikację 4 metabolitów różnicujące surowice nowotworowe i kontrolne z doskonałą zdolnością predykcyjną określoną na podstawie pola pod krzywą AUC wynoszącą 0.999. Analiza z zastosowaniem ICP-OES zidentyfikowała dwa pierwiastki (Fe i Li) z polem pod krzywą AUC wynoszącą 0,807. Analiza z zastosowaniem spektrometrii mas LDI-MS oraz wysokorozdzielcza spektrometria mas UHRMS umożliwiła dodatkową identyfikację odpowiednio 25 i 27 metabolitów różnicujących obydwie grupy. Ponadto w analizie LDI-MS i UHRMS odpowiednio 5 i 23 metabolity wykazywały zdolność do rozróżnienia pomiędzy poszczególnymi stopniami złośliwości histopatologicznej (grade) a surowicą kontrolną oraz 9 i 37 metabolity, które rozróżniały pomiędzy poszczególnymi stopniami zaawansowania klinicznego (stage) a surowicą kontrolną. Wyselekcjonowano 5 metabolitów, które mogą

potencjalnie służyć jako biomarkery do rozróżniania raka pęcherza moczowego o niskim stopniu złośliwości (LG) i raka pęcherza moczowego o wysokim stopniu złośliwości (HG), a także 9 metabolitów, które mogą pomóc w rozróżnieniu stadiów zaawansowania choroby pTa/pT1 (NMIBC) i pT2 (MIBC). Analiza szlaków i wzbogacona analiza szlaków pozwoliły na umiejscowienie metabolitów w łącznie 24 różnych szlakach metabolicznych (17+7).

Próbki moczu poddano analizie ^1H NMR, LDI-MS oraz UHRMS. Zidentyfikowano odpowiednio 5, 25 i 51 metabolitów różnicujących mocz pochodzący od pacjentów z rakiem pęcherza moczowego w porównaniu z kontrolnymi próbkami moczu. Wszystkie metabolity z analizy ^1H NMR, LDI-MS charakteryzowały się wysoką wartością predykcyjną określoną na podstawie pola pod krzywą AUC > 0,87, zaś 5 z 51 metabolitów z analizy UHRMS charakteryzowało się bardzo wysokim wskaźnikiem AUC > 0,9. Udało się również zidentyfikować metabolity które rozróżniają pomiędzy poszczególnymi stopniami zaawansowania klinicznego i stopniami złośliwości histopatologicznej w porównaniu z kontrolnymi próbkami moczu. Nie zidentyfikowano jednak statystycznie istotnych różnic we wzorcach metabolitów, które rozróżniałyby między sobą poszczególne stopnie zaawansowania klinicznego (pTa vs. pT vs. pT2) lub stopnie złośliwości histopatologicznej (LG vs HG). Analiza szlaków i wzbogacona analiza szlaków obydwu publikacji dotyczących analizy metabolomicznej moczu pozwoliły na umiejscowienie metabolitów w łącznie 7 różnych szlakach metabolicznych (3+4).

Podsumowując wyniki tego badania dostarczają informacji na temat potencjalnych biomarkerów metabolicznych raka pęcherza moczowego oraz powiązanych z nim zmian metabolicznych zachodzących w raku pęcherza moczowego. Zidentyfikowane metabolity, na podstawie wyników analizy statystycznej, wykazują potencjał jako biomarkery diagnostyczne dla tego nowotworu. Analiza szlaków metabolicznych, w których występują te metabolity, oraz ich związek z procesami nowotworowymi dodatkowo umożliwiają lepsze zrozumienie patogenezy i biologii raka pęcherza moczowego. Dalsze badania i weryfikacja tych wyników może przyczynić się do rozwoju nowych strategii diagnostycznych i terapeutycznych z zakresu omawianej choroby.