

NIECELOWANA ANALIZA METABOLOMICZNA SUROWICY KRWI PACJENTEK Z ZESPOŁEM POLICYSTYCZNYCH JAJNIKÓW

Anna Rajska¹, Magdalena BUSZEWSKA-FORAJTA¹, Aleksandra SZYBIAK², Agnieszka KOWALEWSKA³,
Dominik RACHOŃ², Michał J. MARKUSZEWSKI¹

¹ Zakład Biofarmacji i Farmakokinetyki, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

² Zakład Endokrynologii Klinicznej i Doświadczalnej, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

³ Indywidualna Specjalistyczna Praktyka Lekarska Agnieszka Kowalewska

26

KONFERENCJA
NAUKOWA
WYDZIAŁU FARMACEUTYCZNEGO
CEL PRACY

WSTĘP

Zespół policystycznych jajników (PCOS) to złożone, endokrynologiczne zaburzenie o niewyjaśnionej patogenezie, które stanowi jedną z głównych przyczyn niepłodności kobiet w wieku reprodukcyjnym. Główne składowe PCOS to:

1. Oligoowulacja lub brak owulacji
2. Kliniczne i/lub biochemiczne objawy hiperandrogenizmu
3. Obecność policystycznych jajników w badaniu USG

METODYKA

Chromatografia cieczowa		Spektrometria mas	
Faza ruchoma	A: 0.1% HCOOH w wodzie B: 0.1% HCOOH w ACN	Ciśnienie na nebulizerze	30 psig
Tryb zbierania danych	SCAN	Napięcie przyłożone do kapilary	3250 V
Przepływ gazu	10 ml/min	Napięcie na stożku	65 V
Temp. gazu suszającego	325 °C	Napięcie na fragmentorze	150 V
		Zakres mas	m/z 50 -1000
Chromatografia gazowa		Spektrometria mas	
Ciśnienie gazu	53.5 kPa	Przepływ gazu	10 ml/min
Temp. pieca	60 °C (1 min) (8 °C/min) 320 °C (5 min)	Temp. lini transferowej	300 °C
		Temp. źródła jonów	200 °C
Tryb nastrzyku próbki	Bez podziału próbki	Tryb zbierania danych	SCAN
Temp. dozownika	250 °C	Zakres mas	m/z 50 -600

PROCESOWANIE DANYCH

- Filtracja
- Normalizacja
- Identyfikacja

WIELOWYMIAROWA
Analiza PCA
Metody VIP i SR

JEDNOWYMIAROWA
Test t-Studenta/
U Manna-Whitney'a
Poprawka Bonferroni
i Benjamini-Hochberga

GRUPA BADANA



	PCOS(n=30)	Kontrola(n=30)
WIEK	22-38	17-39
BMI	24,99 ± 5,09	23,61 ± 5,51

Oznaczenie i porównanie profili metabolomicznych próbek surowicy krwi pochodzących od pacjentek z PCOS oraz zdrowych ochotniczek

Określenie w jakich szlakach biochemicznych istnieją zaburzenia powodujące zmiany stężeń poszczególnych metabolitów w organizmie chorych kobiet



GC-QqQ/MS

- Odbiałczenie**
- Zimny MeOH
- Dodatek wzorca wewnętrznego**
- Kwas pentadekanowy (1 mg/ml)
- Konwersja chemiczna**
- O-metoksamina w pirydynie (16 h, RT)
 - BSTFA : TMCS (99:1, v/v)
- Rozcieńczenie**
- Heptan

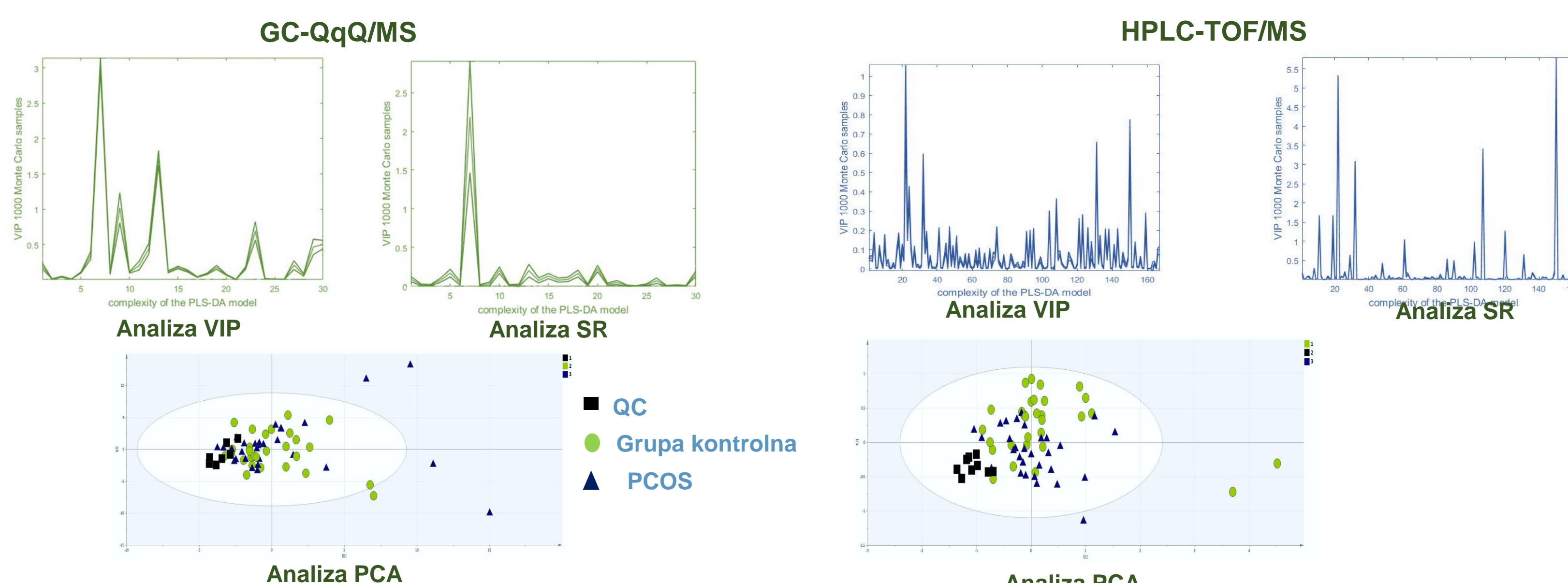


HPLC-TOF/MS

- Odbiałczenie**
- Zimny MeOH : EtOH, 1:1, v/v
- Dodatek wzorca wewnętrznego**
- 1-(4-Fluorobenzyl)-5-oksoprolina (1 µg/ml)
- Filtracja**
- Sączi nylonowe, d=0,22 µm

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

ANALIZA STATYSTYCZNA



WYNIKI

Obniżony poziom metabolitów

Cholesterol

Podwyższony poziom metabolitów

Kwas mlekowy, Fenyloalanina
Treonina, Kwas moczowy, Tyrozyna, Pentoza, PC (18:1)/ PC (18:0), LysoPC (18:1), Hipoksantyna, Tryptofan, PI (42:4)
Sfinganina, Oksykortyzol
Siarczan testosteronu (DHEAS)

Cholesterol
PC, LysoPC, PI
Sfinganina

Fenyloalanina, Walina
Tryptofan, Tyrozyna

Siarczan testosteronu/
DHEAS

Metabolizm lipidów

Metabolizm hormonów steroidowych

Metabolizm aminokwasów

Kwas mlekowy

Metabolizm węglowodanów

Metabolizm puryn

Kwas moczowy

WNIOSKI