



בדיקת דם לזיהוי סרטן ה-DIPG

בשיטת Single Molecule Imaging

מסקנות

מתוצאות שלושת הניסויים הוכח כי שיטת – Single Molecule Imaging, הינה ספציפית, בעלת יכולת כימות של הנוקלואוזום המוטנט H3K27M [2], ויכולה לשמש לאבחון חולי DIPG בהליך לא פולשני.

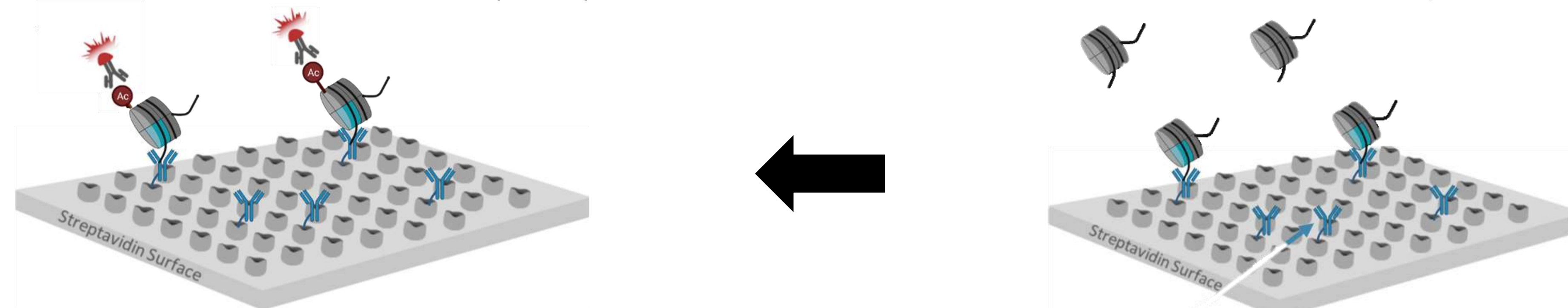
ניתן לראות באיור [3] כי ישנה ירידה משמעותית בסינגל אצל חולה ה-DIPG שעבר טיפולים (83C) הנובעת מהטיפול שגרם להתכווצות של הגידול ולהפתחתה במספר הנוקלואוזמים המוטנטים החופשיים בדמו. לכן שיטת Single Molecule Imaging יכולה לסייע במעקב אחרי מטופלים ובדיקת השפעת טיפולים שונים על חולים במחלה זו.

חשיבות המחקר

כיום לסרטן ה-DIPG לא קיים טיפול תרופתי ומכיוון שלא ניתן להסירו בהליך כירורגי, הקו הטיפולי הננקט בטיפול בסרטן זה הוא בעיקר הקרנות. להקרנות אפקטיביות מוגבלת בצמצום גידולים סרטניים. מכאן, שיש חשיבות רבה לאיתור מוקדם ויעיל של המחלה. בשימוש בשיטת Single Molecule Imaging ניתן לאבחן חולי DIPG בצורה לא פולשנית ובכך לעודד חולים "החשודים" ל-DIPG להיבדק ולגרום לזיהוי מוקדם ככל שניתן של הסרטן, זאת במטרה להגדיל את סיכויי ההישרדות והצלחת הטיפול.

הסיבה שלשמה התכנסנו

מטרת מחקר זה הייתה הוכחת שיטת Single Molecule Imaging המזהה חלבונים, כספציפית ובעלת יכולת לזהות חולי-DIPG בעזרת דגימת דם. בשיטת Single Molecule ישנו שימוש במשטח ביוטין המצופה סטרפדווין, אליו מוצמדים נוגדני תפיסה הספציפיים למוטציה H3K27M ה"תופסים" את הנוקלואוזום המוטנט, לאחר מכן מוזרמים נוגדני סימון פלורוסנטיים הנצמדים לנוקלואוזום, ולבסוף מבוצע דימות TIRF (Total Internal Reflection Fluorescence).



איור מס' 1 - תיאור ויזואלי של שיטת Single Molecule Imaging מימין לשמאל. הנוקלואוזמים מוזרמים על משטח הביוטין המצופה סטרפדווין ונצמדים לנוגדני התפיסה (ימין), ומסומנים על ידי נוגדני סימון פלורוסנטיים (שמאל).

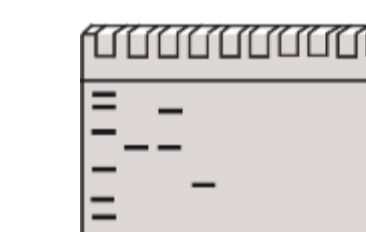
שלבי הוכחת המערכת:



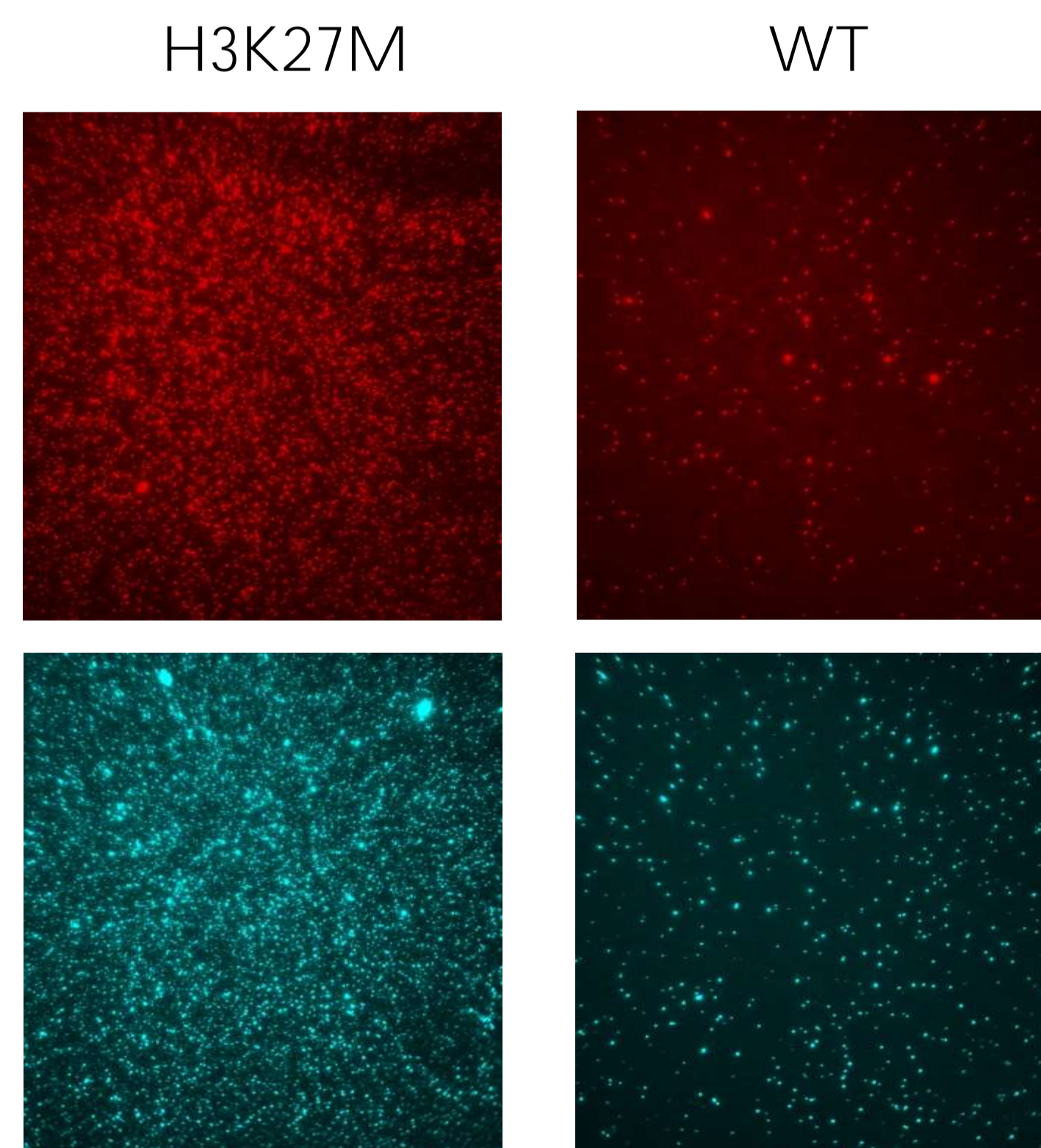
בדיקת המערכת המלאה בשימוש בדגימות דם מחולי DIPG ובריאם



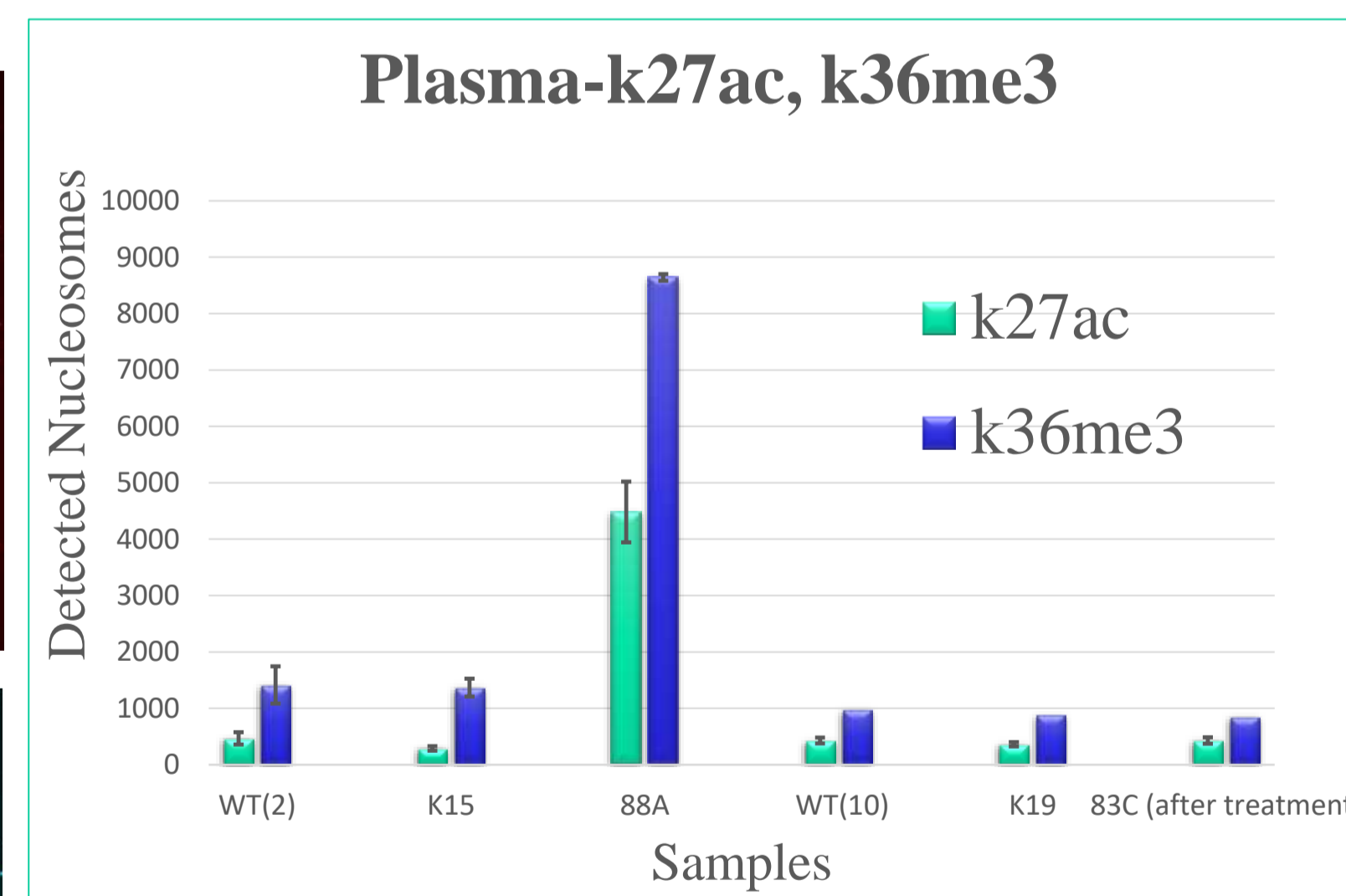
בדיקת המערכת בנוקלואוזמים מתאי HEK293 שסומנו במעבדה



ביצוע תספיג חלבון להוכחת ספציפיות נוגדן התפיסה

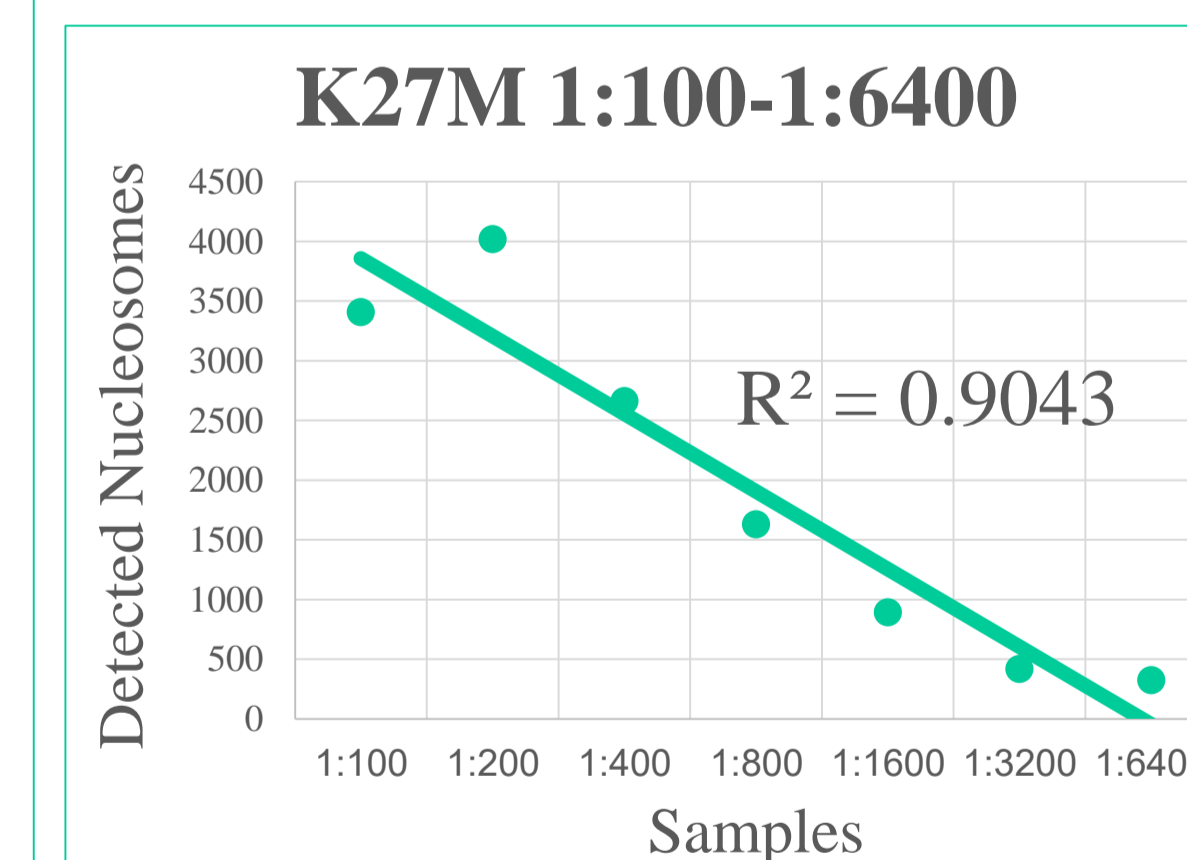


איור מס' 4 - צילום TIRF בדגימות דם, חולה (שמאל) מול אדם בריא (ימין).



איור מס' 3 - כמות הנוקלואוזמים המוטנטים הממוצעת שזוהו כאשר נבדקה המערכת בשימוש בדגימות דם מחולי DIPG, חולי סרטנים אחרים, ובריאם, בשימוש בשני נוגדני זיהוי. ניתן לראות כי אותה כמות גבוהה של נוקלואוזמים אצל חולה ה-DIPG (88A).

תוצאות:



איור מס' 2 - כמות הנוקלואוזמים המוטנטים הממוצעת שזוהו כאשר נבדקה המערכת בסביבה מבוקרת בתאי HEK293. כל דוגמית עוקבת מכילה כחצי מכמות החלבון שבדוגמית שלפניה.

DIPG

Diffuse Intrinsic Pontine Glioma (DIPG) הינו סוג נדיר של סרטן מוח הפוגע בכ-200-300 ילדים בארצות הברית כל שנה זמן הישרדותם הממוצע הוא שנה לאחר הזיהוי. גידול ה-DIPG מופיע באזור במוח הנקרא הגשרון (pons) האחראי לפעולות משמרות חיים. בהתחשב במיקומו הקריטי של גידול סרטני זה, לא ניתן להסירו בהליך כירורגי.

איתור

אבחון גידול ה-DIPG מתבצע על ידי איתור נוקלואוזמים מוטנטים חופשיים המשוחררים על ידי תאים סרטניים שעברו תהליך מוות תאי הנקרא אפופטוזיס. לשם כך נלקחת דגימת נוזל שדרה, תהליך פולשני וכואב במבוגרים וילדים כאחד היכול לגרום לרתיעה וגילוי מאוחר של הסרטן. במחקר זה נעשה שימוש בדגימת דם במטרה לעודד זיהוי מוקדם של סרטן ה-DIPG.

דם סמיך ממים

לזיהוי הנוקלואוזמים בזרם הדם קשיים רבים, מספר נמוך של נוקלואוזמים המגיעים אל הזרם בגלל מחסום ה-BBB, ונוזל הדם המלא בנוטריאנטים ותאי דם.

לכן לזיהוי סרטן ה-DIPG בדם דרוש פיתוח שיטה מדויקת וכמותית.

