**Összefoglaló**

**Pericardialis folyadékból izolált extracelluláris vezikulák (EV-k) patogenetikai szerepének vizsgálata nagy érzékenységű tömegspektrometriás módszerrel történő proteomikai analízissel**

Szinergia csoportunk a pericardiális folyadékban keringő extracelluláris vezikulák (EV) komplex immunológiai és proteomikai jellemzését végezte a Szinergia V. program keretén belül. A pericardiális folyadék többszínű FACS módszerrel jellemzett mikrovezikula (MV) frakcióját hasonlítottuk össze 4, klinikailag jól definiált betegcsoportban: acut és electiv coronaria bypass műtéten átesett betegek (CABG), ill. transzplantációban részt vevő betegek (donorok és recipiensek). Betegcsoportonként 3-3 mintából MV és exoszóma frakciót izoláltunk és nagy érzékenységű tömegspektrometriás módszerrel proteomikai analízist végeztünk. A tömegspektrometriával azonosított fehérjéket a Uniprot, a FunRich és a STRING adatbázisok segítségével, funkcionális protein asszociációs analízisekkel értelmeztük. Rendszerszemléletű megközelítéssel összefüggéseket keresünk a klinikai paraméterekkel (laboratóriumi paraméterek; gyulladás markerek, képalkotó eljárásokkal végzett kardiológia vizsgálatok eredményei).

Eredményeinket technikai és élettani szempontból értékelhetjük: 1) Jelenleg a szakirodalomban nem áll rendelkezésre olyan metodikai leírás, amely a pericardiális folyadék EV frakciójának MS vizsgálatához egyértelmű útmutatást adna. Munkánk egyik, technikai szempontból értékelhető eredménye egy erre vonatkozó javaslat kidolgozása közlemény formájában. (A közlemény megírás alatt van). 2) Patofiziológiai szempontból: a) sejteredetük szerint jellemeztük a pericardiális folyadék MV frakcióját 4 klinikailag eltérő betegcsoportban; b) elvégeztük az izolált MV és exoszóma frakciók MS proteomikai analízisét; c) kidolgoztunk egy komplex klinikai adatbázist; d) megkezdtük a rendelkezésre álló adatok bioinformatikai elemzését.

**Szinergia összegző űrlap**

(a pályázók közösen ezt az űrlapot töltik ki)

* Adják meg a támogatott szinergia programjuk címét és szakmai fókuszpontját
* Adják meg a szinergia program keretében együttműködő partnerek nevét, tudományos fokozatát, tudományos besorolását, e-mail címét.
* Csatolják a MedInProt programnak köszönhetően elkészült tudományos közleményeik**,** szakmai megjelenésükbibliográfiai adatait, valamint e dokumentum pdf-ét**.** Minden publikáció esetében fejtsék ki max. 2 mondatban a MedInProt relevanciáját.

**A támogatott szinergia program címe:** Pericardialis folyadékból izolált extracelluláris vezikulák (EV-k) patogenetikai szerepének vizsgálata nagy érzékenységű tömegspektrometriás módszerrel történő proteomikai analízissel

**A szinergia program keretében együttműködő partnerek:**

név: Dr Pállinger Éva

tudományos fokozat: PhD,

jelenlegi tudományos besorolás: docens; SE GSI FACS Laboratórium vezetője

e-mail elérhetőség: eva.pallinger@gmail.com

név: Dr Turiák Lilla

tudományos fokozat: PhD,

jelenlegi tudományos besorolás: tudományos munkatárs; MTA TTK MS Proteomika Kutatócsoport

e-mail elérhetőség: turiak.lilla@ttk.mta.hu

név: Dr Kosztin Annamária

tudományos fokozat: PhD fokozatszerzõ

jelenlegi tudományos besorolás: kardiológus rezidens SE Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika

e-mail elérhetőség: kosztin.annamaria@gmail.com

1. Fejtsék ki pontosan, hogy a kutatási együttműködésük hogyan kapcsolódott az alább megadott MedinProt **fókuszpontok** legalább egyikéhez *(max. 300 szó)****.***

Vizsgálataink a „Jelátviteli fehérjék szerepe gyulladásos és daganatos megbetegedésekben” című témához kapcsolódott. Célkitűzésünk a pericardiális folyadékban jelen lévő extracelluláris vezikulák (EV) proteomikai vizsgálata volt.

A szív és érrendszeri megbetegedések (CVD) világszerte vezető halálokként szerepelnek. Kialakulásuk és progressziójuk számos sejtféleség egymásra hatásának eredménye, amelyek mindegyike termel EV-kat és célpontja lehet az EV-nak. Több munkacsoport foglakozik a plazma keringő EV mintázatának jellemzésével, nem titkoltan azzal a céllal, hogy a CVD prognosztikájában felhasználható biomarkert tudjon azonosítani. A pericardialis folyadék mennyiségi és minőségi változásait számos kórképben leírták, azonban a mintavétel invazivitása és kockázata miatt csak nagyon kevés kutatási adat áll rendelkezésre, sőt a pericardiális folyadékból izolált EV-k tömegspektrometriás módszerrel történő proteomikai analíziséről jelenleg még egyáltalán nincsenek közlemények.

Kutató munkánkat az tette lehetővé, hogy a SE Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika biobankja rendelkezik egy egyedülálló pericardiális folyadék minta állománnyal, amelyből a vizsgálatokat el lehetett végezni. Tekintettel arra, hogy rendelkezésünkre áll a feldolgozott minták teljes klinikai adatbázisa, beleértve az anamnesztikus adatokat, a laboratóriumi vizsgálatok és képalkotóeljárások eredményeit, ez lehetővé teszi számunkra a komplex bioinformatikai analízist.

Együttműködésünk három pillére a klinikai adatbázis létrehozásán (Kosztin Annamária), az extracelluláris vezikulák jellemzésén és izolálásán (Pállinger Éva) és a nagy érzékenységű tömegspektrometriás módszerrel történő proteomikai analízisen (Turiák Lilla) alapult.

1. Foglalják össze **közérthetően** szinergia programjuk, és közös munkájuk eredményeit *(max. 300 szó).*

Munkánk során 4 betegcsoportban (sürgősségi és tervezett szívkoszorúér műtéten átesett betegek ill. transzplantációban részt vevő betegek - donorok és recipiensek- ) végeztünk vizsgálatokat. A klinikai adatbázis létrehozását követően kiválasztottuk azt a 3-3 beteget, akiknek a pericardiális folyadék mintájából dolgozni kívántunk. Mivel a pericardiális folyadékból történő extracelluláris vezikula izolálásra nincsen hivatalos ajánlás, ezért a vérplazmából történő izolálási módszert adaptáltuk, majd validáltuk. A mintaelőkészítés kidolgozását követően mikrovezikula (MV) és exoszóma frakciókat izoláltunk a kiválasztott 12 mintából. Tekintettel arra, hogy nincs ajánlás a pericardiális folyadékból izolált EV-k tömegspektrometriás mintaelőkészítésére sem, ezért ennek kidolgozása is a feladatunk volt. Az izolált EV frakciókat kétféle mintaelőkészítési módszerrel dolgoztuk fel: depletálás nélkül és fehérje depletálást követően. A tömegspektrometriával azonosított fehérjéket a Uniprot, a FunRich és a STRING adatbázisok segítségével, funkcionális protein asszociációs analízisekkel értelmeztük. A klinikai paraméterekkel történő, rendszerszemléletű analízist megkezdtük.

Eredményeink:

1. Beállítottuk és validáltuk a pericardiális folyadékból történő EV izolálás módszerét.

2) Beállítottuk a pericardiális folyadékból izolált EV-k tömegspektrometriás analízisre történő mintaelőkészítését.

3) Jellemeztük a pericardiális folyadék MV mintázatát sejteredetük szerint 4 klinikailag jól definiált betegcsoportban.

4) Elvégeztük a pericardiális folyadékból izolált MV és exoszóma frakciók MS proteomikai analízisét (12 mintából, összesen 24 frakcióban, kétféle előkészítési módszerrel).

5) A bioninformatikai analízishez létrehoztunk egy komplex klinikai adatbázist.

6) Megkezdtük a rendelkezésre álló adatok bioinformatikai elemzését.

1. Értékeljék és véleményezzék közös munkájukat (sikereiket, nehézségeiket, illetve azon ötleteiket, javaslataikat, amelyeknek köszönhetően a következő programok hatékonysága javulhat) *(max. 200 szó).*

Közös munkánk kutatói eredményének értékeljük, hogy sikerült a plazmából történő EV izolálás és tömegspetrometriás mintaelőkészítés módszerét adaptáltuk a pericardiális folyadékra. A klinikusi háttértudás nélkül nem tudtuk volna kiválasztani azokat a vizsgálati mintákat, amelyek összevethetőek lettek bioinformatikai analízissel.

Személyes eredményként könyveljük el, hogy munkacsoportjaink között szoros párbeszéden alapuló együttműködés alakult ki, amelyet a Medinprot Szinergia pályázat befejeződése után is fenn kívánunk tartani:

1. Résztvevői vagyunk egy NKVP\_16 pályázatnak.

2. Folyamatban van egy közös review közlemény írása az EV-k tömegspektrometriás mintaelőkészítésével kapcsolatban.

**4)** Szabadon fogalmazzák meg a MedInProt kapcsán támogató és/vagy kritikus észrevételeiket. *(max. 200 szó)*

A Medinprot Szinergia Pályázatot hiánypótló kezdeményezésnek tartjuk több szempontból is. A különböző szakterületeket képviselő szakemberek tudásának különbözősége egyrészt nézőpontbeli változást jelent a kutatott területen, másrészt jelentősen bővíti a megválaszolható kérdések számát. Tapasztalatunk szerint a közös munka nemcsak a szakmai tudás összeadódását eredményezi, de nagymértékben innovatív is.