

Abstrakt

Dědičné poruchy glykosylace proteinů (CDG) představují rozsáhlou skupinu závažných metabolických onemocnění, která jsou způsobena poruchou v biosyntéze glykoproteinů. Pro „screeningové“ vyšetření poruch N-glykosylace se využívá analýza sialovaných isoformů sérového transferinu (Tf) pomocí isoelektrické fokusace (IEF). V případě nemoci dochází ke změnám v zastoupení jednotlivých isoformů Tf, rozlišujeme patologický profil typu I (snížený tetra-, zvýšený di- a asialotransferin) a typu II (má navíc zvýšený tri- a monosialotransferin). Cílem diplomové práce bylo: 1) stanovit referenční rozmezí pro spektrum sialovaných forem Tf separovaných pomocí IEF a 2) provést u tří pacientů (P1-P3) s klinickým podezřením na CDG biochemickou a molekulárně genetickou analýzu. Materiálem byly vzorky sér a genomové DNA od tří pacientů s klinickým podezřením na CDG a rodinných příslušníků od P1. Kontrolní soubor tvořilo 99 vzorků sér od zdravých jedinců ve věku 2-42 let. Sérum bylo analyzováno pomocí IEF s následnou imunofixací, SDS-PAGE a Western blotem s využitím specifické protilátky proti lidskému Tf (Dako). Profily Tf byly kvantifikovány pomocí programu AlphaEaseFC (Alpha Innotech). Data byla zpracována pomocí programu STATISTICA 9.0 (StatSoft). Analýza genů *TF* a *PMM2* byla provedena pomocí cyklického sekvenování ABI PRISM (Applied Biosystems). V práci byly stanoveny referenční intervaly pro jednotlivé isoformy Tf: hexa- ($6,3 \pm 1,29$ %), penta- ($18,26 \pm 2,23$ %), tetra- ($55,11 \pm 4,05$ %), tri- ($13,66 \pm 2,47$ %), di- ($6,64 \pm 1,90$ %), mono- a asialotransferin (< 1 %). Statisticky významná závislost jednotlivých sialotransferinů na věku a pohlaví nebyla nalezena. U P1 byl detekován patologický profil Tf typu I. Ten byl způsoben doposud nepopsanou heterozygotní mutací c.1889A>C v genu *TF*, která má za důsledek blokadu glykosylačního místa N630 v Tf. Stejný nálezn byl potvrzen u jeho tří rodinných příslušníků. U P2 byl nalezen patologický profil Tf typu II a vyloučena přítomnost polymorfismů v genu *TF*. Byl zařazen do skupiny pacientů s CDG-IIx. U P3 s patologickým profilem Tf typu I byla potvrzena diagnosa PMM2-CDG na základě identifikace dvou patologických mutací c.338C>T a c.422G>A v genu *PMM2*.

klíčová slova: *transferin, isoelektrická fokusace, CDG, PMM2-CDG, diagnostika*