

Abstrakt

Úvod: Závažná proteinurie může být způsobena jednak zvýšenou permeabilitou glomerulární bazální membrány, porušením struktury membrány či podocytů, tak také porušením sekrečně-reabsorpčních tubulárních procesů. Metodou 2D elektroforézy jsme analyzovali 60 pacientů s nefrotickou proteinurií a jinými diagnózami (lupusová nefritida, membranózní nefropatie, IgA nefropatie, Wegenerova granulomatóza) a 20 pacientů s Andersonovo-Fabryho chorobou (AFD), jenž je X-vázané genetické onemocnění postrádající aktivitu α -galaktozidázy A. Hlavním cílem této práce bylo nalézt možné rozdíly močových proteinů u nefropatií, mezi zdravými kontrolami a AFD pacienty a identifikovat abnormální proteiny jako potenciální biomarkery nemoci.

Metodika: Močové proteiny byly děleny metodou izoelektrické fokusace s použitím polyakrylamidových stripů (pH 3-10 lineární). SDS elektroforéza byla provedena v 12% polyakrylamidovém gelu. Proteiny byly vizualizovány stříbrem a identifikovány MALDI-TOF MS. Gely byly hodnoceny softwarem Phoretix 2D expression verze 2005.

Výsledky: Zjistili jsme, že bez přídavku inhibitorů proteáz můžeme detekovat proteolýzu se zvýšeným množstvím proteinů nacházejících se v oblasti kolem 10 kDa a sníženým množstvím proteinů vyskytujících se v oblasti kolem 50 kDa. Odstranění albuminu zlepšilo přehlednost močových proteomů. Srovnání močových map ukázalo významné změny proteinů, které jsou typické pro Andersonovu-Fabryho chorobu a nefropatie. U AFD pacientů byla nalezena glykosylace prostaglandin H2 D-izomerázy v místě Asn51 a Asn78. Pomocí MALDI-TOF MS byl identifikován albumin, transferin, alfa-1 antitrypsin a transthyretin prekurzor.

Závěr: Změny močových proteinů mohou být důležité pro diagnózu a vývoj renálního onemocnění. Močová proteomika u AFD pacientů odhalila zvýšenou sekreci některých proteinů. Předpokládáme, že pozorované rozdíly v množství a pozici prostaglandin H2 D-izomerázy na 2D gelu, mohou být spojeny s odlišnou glykosylací u AFD jedinců.

Klíčová slova: Andersonova-Fabryho choroba/ MALDI-TOF MS/ dvou rozměrná elektroforéza/ močové proteomy / nefrotický syndrom