

Kalretikulin – autoantigén u autoimunitných a nádorových ochorení

Úvod: Kalretikulin, vápnik viažúci proteín a chaperon, je častý autoantigén u autoimunitných ochorení. Nedávno boli protilátky proti kalretikulinu (CRT) preukázané v sérach niektorých pacientov s karcinómom pečene (CaH) a pankreasu (CaP) použitím kombinácie dvojrozmernej elektroforézy a Western blotu. **Ciele:** Cieľom tejto práce bolo **a)** kvantifikovať hladiny IgA a IgG protilátok proti CRT v sérach pacientov s CaH, CaP (metastazujúcimi, nemetastazujúcimi), nádorom hrubého čreva, pankreatitídou a vírusovou hepatitídou, **b)** analyzovať antigénne epitopy CRT, **c)** pripraviť prvú polovicu ľudského rekombinantného CRT. **Metódy:** Priamym ELISA testom s ľudským rekombinantným CRT sme testovali výšky hladín sérových protilátok. Metódou PEPSCAN so syntetickými dekapeptidmi CRT sme analyzovali antigénne epitopy CRT rozpoznávané IgA a IgG protilátkami v sérach pacientov s CaH a CaP. Rekombinantnou technológiou bola pripravená a následne afinitnou chromatografiou izolovaná prvá polovica ľudského rekombinantného CRT. **Výsledky:** **a)** V porovnaní s kontrolnými sérami zdravých krvných darcov (2/35) sme preukázali signifikantne zvýšené hladiny IgA anti-CRT protilátok u pacientov s CaH ($P < 0,01$, 8/13), CaP ($P < 0,05$, 17/38), CaP s metastázami v pečeni ($P < 0,01$, 2/8) a pankreatitídou ($P < 0,05$, 4/14). Signifikantne zvýšené hladiny IgG anti-CRT protilátok boli detekované u pacientov s CaH ($P < 0,01$, 8/13) a CaP ($P < 0,01$, 15/38) v porovnaní s kontrolnými sérami zdravých krvných darcov (2/35); **b)** IgA protilátky všetkých pacientov s CaH a CaP reagovali s aminokyselinovými sekvenciami EVKIDNSQVESG a RKEEEEAEDKED na molekule CRT. IgG protilátky pacientov s CaH i CaP rozpoznávali spoločnú aminokyselinovú sekvenciu EEDKKRKEEEEAEDKED, s nižšou frekvenciou i peptidy FAEAPFSNKGQT, ERAKIDDPTD a DKAPEHIPDP; **c)** Prvá polovica rekombinantného CRT bola po expresii v *E.coli* viazaná na bunkové inklúzie, preto sme ju museli solubilizovať roztokom močoviny a izolovať za denaturačných podmienok. **Záver:** Naše výsledky poukazujú na pravdepodobnú existenciu epitopov špecificky rozpoznávaných protilátkami pacientov s onkologickými ochoreniami. Testovanie protilátok proti týmto epitopom by mohlo slúžiť k diagnostickým či prognostickým účelom.

Kľúčové slová: kalretikulin, protilátky, nádory pečene, nádory pankreasu, antigénne epitopy, ELISA, PEPSCAN