

IZOLACJA EGZOSOMÓW Z MOCZU LUDZI I SZCZURÓW ORAZ ICH CHARAKTERYSTYKA

Salaga-Zaleska K.¹, Dziomba Sz.², Steć A.², Płoska A.³, Kalinowski L.³, Jankowski M.¹

¹*Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej*

²*Katedra i Zakład Toksykologii*

³*Zakład Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej, Katedra Analityki Klinicznej
Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny*

Algorytm rozpoznawania przewlekłej niewydolności nerek (stadium G3-G5 przewlekłej choroby nerek), opierający się na określeniu wydalania albuminy z moczem, stężenia kreatyniny we krwi oraz szacowanej wielkości przesączania kłębuszkowego, pozwala na rozpoznanie 50% utraty funkcji wydalniczej nerek [1]. Analiza zmiany składu białkowego egzosomów (zwnętrzkomórkowych pęcherzyków błonowych) izolowanych z moczu, może wskazywać na rozwijające się zaburzenia struktury kłębuszków nerkowych na wczesnym etapie rozwoju choroby.

Celem badań było opracowanie procedury izolacji egzosomów z moczu.

Materiał do badań stanowił ludzki mocz poranny oraz mocz z dobowej zbiórki moczu szczurów Wistar. Izolację pęcherzyków błonowych przeprowadzono metodą ultrawirowania (200000 g 1 h 4 °C). Ekspresję specyficznych antygenów egzosomalnych (CD9, CD81, CD63) potwierdzono metodą Western blot. Izolaty badano także przy użyciu kapilarnej elektroforezy strefowej. Analiza ta wykazała obecność sygnału typowego dla nanocząstek wykazujących absorbancję promieniowania UV. Rozkład wielkości (67-263 nm) oraz stężenie ($5,2 \cdot 10^{11}$ - $3,5 \cdot 10^{12}$ /ml) pęcherzyków błonowych określono z wykorzystaniem techniki NTA.

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdzają obecność i tożsamość zwnętrzkomórkowych pęcherzyków błonowych/egzosomów w uzyskanych izolatach.

Badania mają charakter wstępny. Planowane jest badanie składu egzosomów izolowanych z moczu pod kątem zawartości w nich białek pochodzenia podocytarnego (nefryna i podocyna), które mogą wskazywać na progresję spadku wielkości filtracji kłębuszkowej i zaburzeń przepuszczalności bariery filtracyjnej, odzwierciedlającej zaburzenie struktury kłębuszków nerkowych [2].

[1] Renke M., Parszuto J., Rybacki M., Wołyniec W., Rutkowski P., Rutkowski B., i in. „Chronic kidney disease – The relevant information for an occupational physician”, w: Medycyna Pracy, 8 listopad 2017; 69(1):67–75.

[2] Musante L., Tataruch D. E., Holthofer H., „Use and isolation of urinary exosomes as biomarkers for diabetic nephropathy” w: Frontiers in Endocrinology, 2014; 5: 149.