

Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas

EDUARDO BUZOLIN BARBOSA¹, ALESSANDRA VIDOTTO², GIOVANA MUSSI POLACHINI², TIAGO HENRIQUE³, ALESSANDRA BERNADETE TROVÓ DE MARQUI⁴, ELOIZA HELENA TAJARA⁵

¹Aluno da Graduação em Medicina, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

²Doutorado em Ciências da Saúde; Pós-doutorado, FAMERP, São José do Rio Preto, SP, Brasil

³Mestrado em Ciências da Saúde; Doutorado, FAMERP, São José do Rio Preto, SP, Brasil

⁴Doutorado; Professor Adjunto, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brasil

⁵Livre-docente; Professora Adjunta, FAMERP, São José do Rio Preto, SP, Brasil

RESUMO

A abordagem proteômica tem permitido estudos em larga escala da expressão proteica em diferentes tecidos e fluidos corporais, em condições e/ou momentos distintos. O recente progresso de metodologias nessa área tem aberto novas oportunidades para obtenção de informações relevantes sobre processos normais e anormais que ocorrem no organismo humano. No presente artigo, é feita uma revisão das principais técnicas proteômicas e de suas aplicações no estudo de doenças humanas.

Unitermos: Proteômica; neoplasias; eletroforese em gel de poliacrilamida; espectrometria de massas; doença.

©2012 Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob a licença de CC BY-NC-ND

SUMMARY

Proteomics: methodologies and applications to the study of human diseases

Proteomic approach has allowed large-scale studies of protein expression in different tissues and body fluids in discrete conditions and/or time points. Recent advances of methodologies in this field have opened new opportunities to obtain relevant information on normal and abnormal processes occurring in the human body. In the current report, the main proteomics techniques and their application to human disease study are reviewed.

Keywords: Proteomics; neoplasms; polyacrylamide gel electrophoresis; mass spectrometry; diseases.

©2012 Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob a licença de CC BY-NC-ND

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

Artigo recebido: 11/10/2011
Aceito para publicação: 20/01/2012

Supporte Financeiro:
FAPESP – CNPq – CAPES

Correspondência para:
Eloiza Helena Tajara
Av. Brig. Faria Lima, 5416
São José do Rio Preto, SP, Brasil
CEP: 15090-000
tajara@famerp.br

Conflito de interesse: Não há.

INTRODUÇÃO

Na busca de marcadores moleculares que auxiliem no diagnóstico precoce e no tratamento de várias doenças humanas, incluindo câncer, muitos estudos têm focado em alterações nos genes, seus transcritos e produtos proteicos envolvidos em processos celulares importantes.

As abordagens metodológicas recentes que permitem uma análise ampla da expressão gênica incluem a técnica de microarranjos de cDNA¹, a análise seriada da expressão gênica/SAGE² e as técnicas de sequenciamento em larga escala utilizando equipamentos de última geração³. O estudo da expressão gênica com tais técnicas permite obter um perfil molecular e fornece oportunidades para identificação de importantes alterações que ocorrem no nível de RNA. Entretanto, a análise dos transcritos é prejudicada pela sua susceptibilidade à degradação e pela falta de concordância entre sua concentração e a de proteína⁴. Além disso, informações sobre processos que modulam a função e a atividade proteica, como modificações pós-traducionais, interações proteína-proteína, transporte e degradação, são perdidas na análise de RNA⁵. Por esse motivo, para entendimento dos mecanismos envolvidos em doenças humanas com consequentes benefícios para os pacientes, é importante que em paralelo aos dados derivados do genoma e aos dados clínicos sejam também obtidas informações sobre as diferenças proteicas entre tecidos e/ou fluidos corporais normais e alterados.

Para identificar e entender essas diferenças é fundamental conhecer o conjunto de proteínas codificadas pelo genoma e definido como proteoma⁶. Na verdade, o proteoma não é apenas a soma dos produtos traduzidos a partir das sequências genômicas, mas inclui também proteínas resultantes de processos pós-transcpcionais e pós-traducionais, bem como complexos formados por essas biomoléculas⁷. Além de sua grande complexidade, o proteoma é dinâmico e seu perfil se altera de acordo com o *status* fisiológico e as fases da diferenciação celular. Algumas estimativas sugerem que mais de um milhão de diferentes tipos de proteínas estão presentes nas células, nos tecidos e nos fluidos corporais em condições e/ou momentos distintos⁸. O termo proteômica refere-se ao estudo do conjunto dessas moléculas, que são responsáveis direta ou indiretamente pelo controle de todos ou quase todos os processos biológicos. Como bem definido por Valledor e Jorrin⁹, a proteômica estuda de forma descritiva e quantitativa desde o conjunto de proteínas de uma organela subcelular até aquelas de um ecossistema, suas variações na população, mudanças em resposta a um ambiente ou decorrentes do desenvolvimento normal ou alterado, e modificações e interações com outras proteínas.

METODOLOGIA EM PROTEÔMICA

Muitas das técnicas empregadas em proteômica têm como foco a identificação de biomarcadores, mas são limitadas

nas aplicações médicas diretas. Outras têm potencial para automatização e utilização na rotina clínica com propósitos diagnósticos e permitem a análise de muitos tipos de amostras e de alterações no padrão de expressão proteica associadas a uma doença. De maneira geral, as metodologias empregadas em proteômica (Figura 1) podem ser classificadas nos tipos *bottom-up* ou *top-down*.

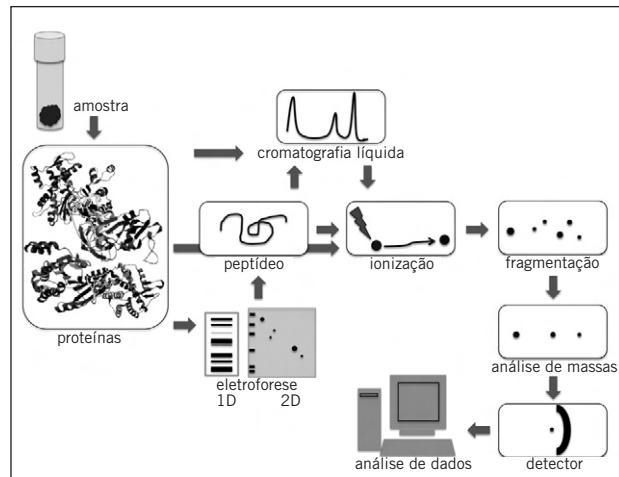


Figura 1 – Diferentes metodologias podem ser combinadas em estudos proteômicos. As metodologias mais comumente utilizadas envolvem extração de proteínas da amostra, separação por eletroforese uni (1-DE) ou bidimensional (2-DE) e/ou por cromatografia líquida, ionização, fragmentação, análise de massas e detecção de peptídeos e análise de dados.

O primeiro, também denominado *shotgun*⁷, inclui separação por cromatografia líquida dos peptídeos obtidos após digestão tríptica de soluções proteicas complexas, seguida de análise por espectrometria de massas (MS). O *top-down*, ao contrário, é um processo no qual as proteínas intactas (e não os peptídeos) são submetidas à análise por MS. As abordagens *bottom-up* possuem muitas vantagens, como sensibilidade e reprodutibilidade, mesmo para proteomas complexos como os de soro e lisados celulares. Entretanto, as respostas obtidas são fragmentos de um todo e, embora seja possível a identificação de uma proteína com base em alguns peptídeos, as modificações pós-traducionais não são reconhecidas. Além disso, um peptídeo pode ser perdido durante a cromatografia ou não gerar espectros de massas adequados. Por esse motivo, a proteômica *top-down* tem recebido recentemente grande atenção da comunidade científica¹⁰.

A combinação dessas abordagens com outros processos, como fracionamento subcelular ou imunoprecipitação de proteínas, pode ser bastante efetiva para enriquecimento da amostra com compostos de baixa abundância ou de organelas celulares de interesse¹¹. As amostras frescas compreendem a primeira escolha nesses estudos, mas em função das dificuldades na sua obtenção, particularmente em doenças raras, alguns métodos têm sido desenvolvidos para espécimes emblocados em parafina¹².

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3826468>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3826468>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)