

**Объединение
молодых нефрологов**

России и Новых Независимых
государств

Особенности протеомного профиля мочи у больных первичными подоцтопатиями

Виноградов А. А., аспирант, МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва,

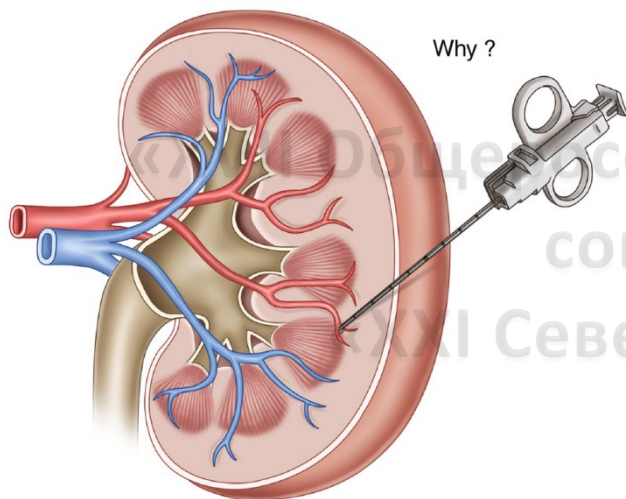
Чеботарева Н. В., д. м. н. профессор, ПМГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва,

Бржозовский А.Г., ИБХФ имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва,

Кононихин А.С., к. ф.-м. н., ИБХФ имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва

Актуальность

Хронический гломерулонефрит →

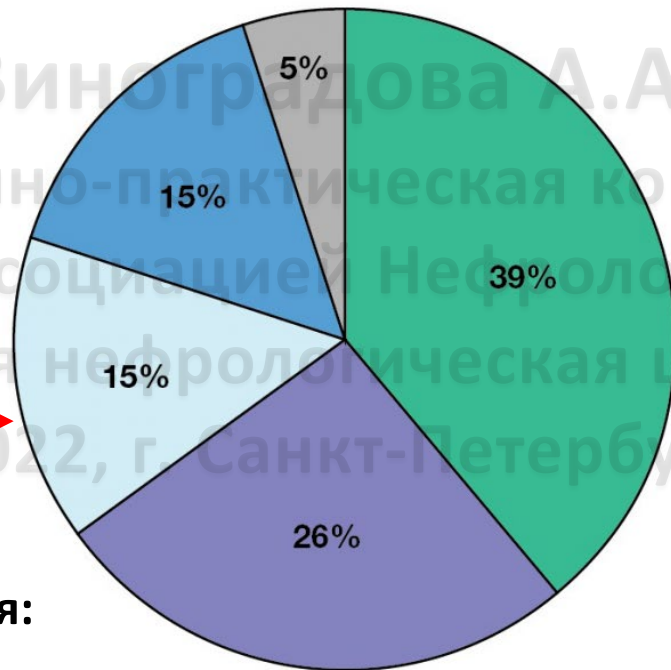


Противопоказания:

- Поликистоз
- Единственная почка
- Остр. пиелонефрит
- Околопочечный абсцесс
- Крупное новообразование
- Нарушения гемостаза с высоким риском кровотечения
- Терминальная стадия ХПН
- Некомплаентный пациент

Осложнения:

- Макрогематурия
- Околопочечная гематома
- Кровотечение, требующее оперативное вмешательство (0,7%)



- Diabetes
- High Blood Pressure
- Glomerulonephritis
- Other Cause*
- Unknown Cause

N=785,883 (all ages, 2018)
Source: US Renal Data System
*Includes polycystic kidney disease, among other causes.

cdc.gov

Протеом мочи

«CKD273 classifier»

(Harald Mischak и команда)

- Панель из 273 белков мочи
- Определяет с высокой чувствительностью и специфичностью наличие ХПБ и позволяет спрогнозировать ее течение.



В настоящее время не разработаны панели биомаркеров для отдельных морфологических форм ХГН.

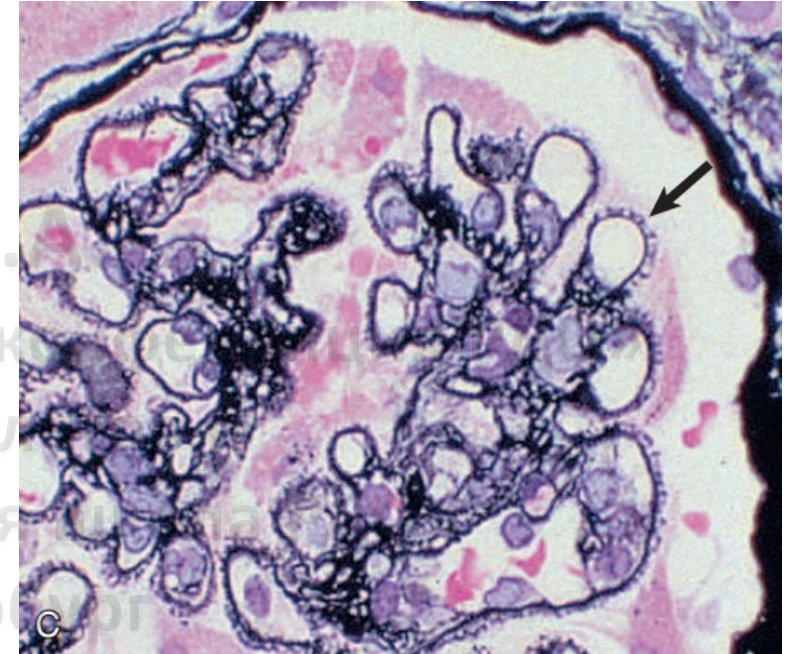
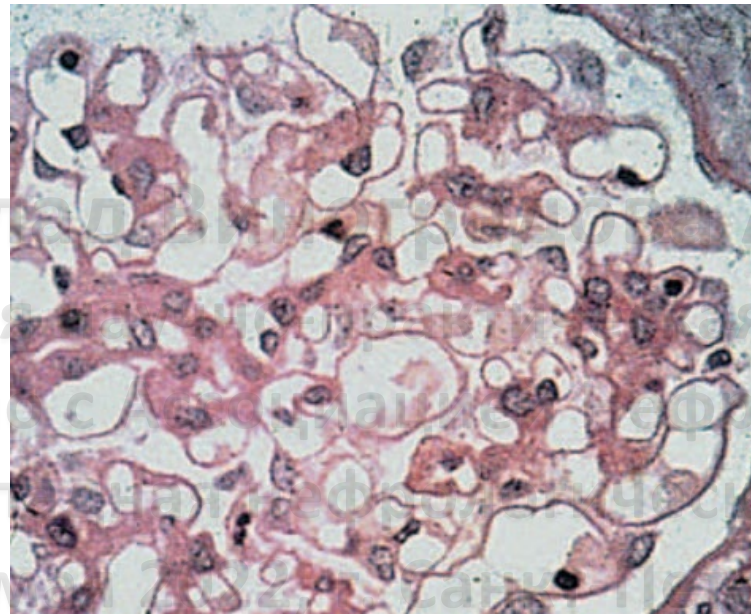
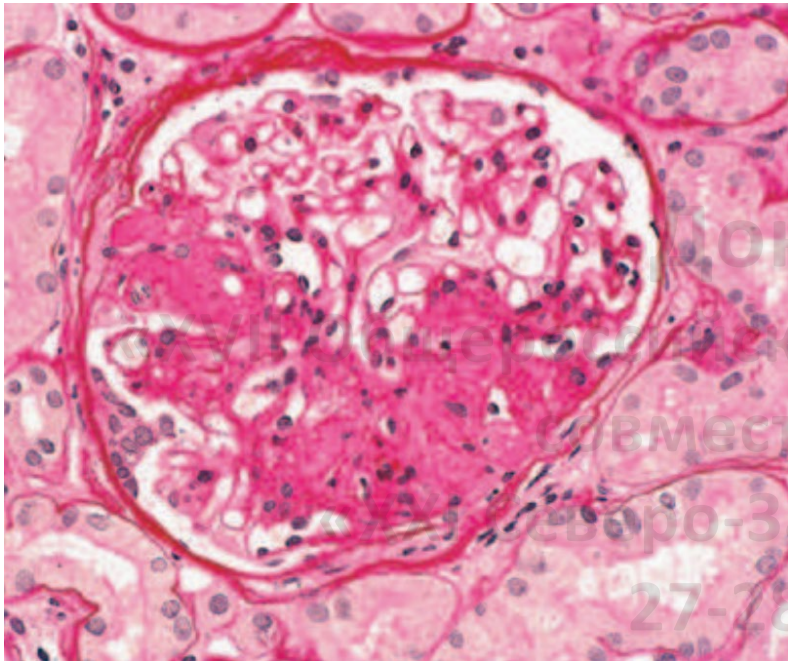


Первичные подоцитопатии

Доклад Виноградова А.А.

- Фокальный сегментарный гломерулосклероз
- Болезнь минимальных изменений
- Мембранозная нефропатия

«Университетская научно-практическая конференция РДО»
совместно с Ассоциацией Нефрологов
«Северо-Западный нефрологическая школа РДО»
27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург



Цель: Доклад Виноградова А.А.

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

совместно с Ассоциацией Нефрологов и
«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»
27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Охарактеризовать изменения протеомного состава мочи у больных ФСГС, БМИ и МН для определения специфических патогенетических звеньев и мочевых биомаркеров этих подоцитопатий.

Доклад Виноградова А.А.

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

совместно с Ассоциацией Нефрологов и

«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»

27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Группы обследованных пациентов

Активный хр. гломерулонефрит (n=55)

муж. 32, жен. 23 (46 [31; 58,5] лет)

	ФСГС, n=30 (18 муж., 12 жен.)	БМИ, n=9 (муж. 2, жен. 7)	МН, n=16 (муж. 12, жен. 4)	Σ
НС	21 (70%)	5 (55,6%)	12 (75%)	38
Без НС (СПУ 1-3 г)	9 (30%)	4 (45,4%)	4 (25%)	17
рСКФ СКД-ЕРІ < 60 мл/мин	12 (40%)	4 (45,4%)	5 (31,3%)	21
	СРНС - 15	СЧНС - 12		

Исследование протеома мочи

- Хромато-масс-спектрометрический анализ (LC-МС) смеси триптических пептидов мочи:

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Система Dionex Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, США)



Времяпролетная масс-спектрометрия (TOF - Time-of-flight mass spectrometry),

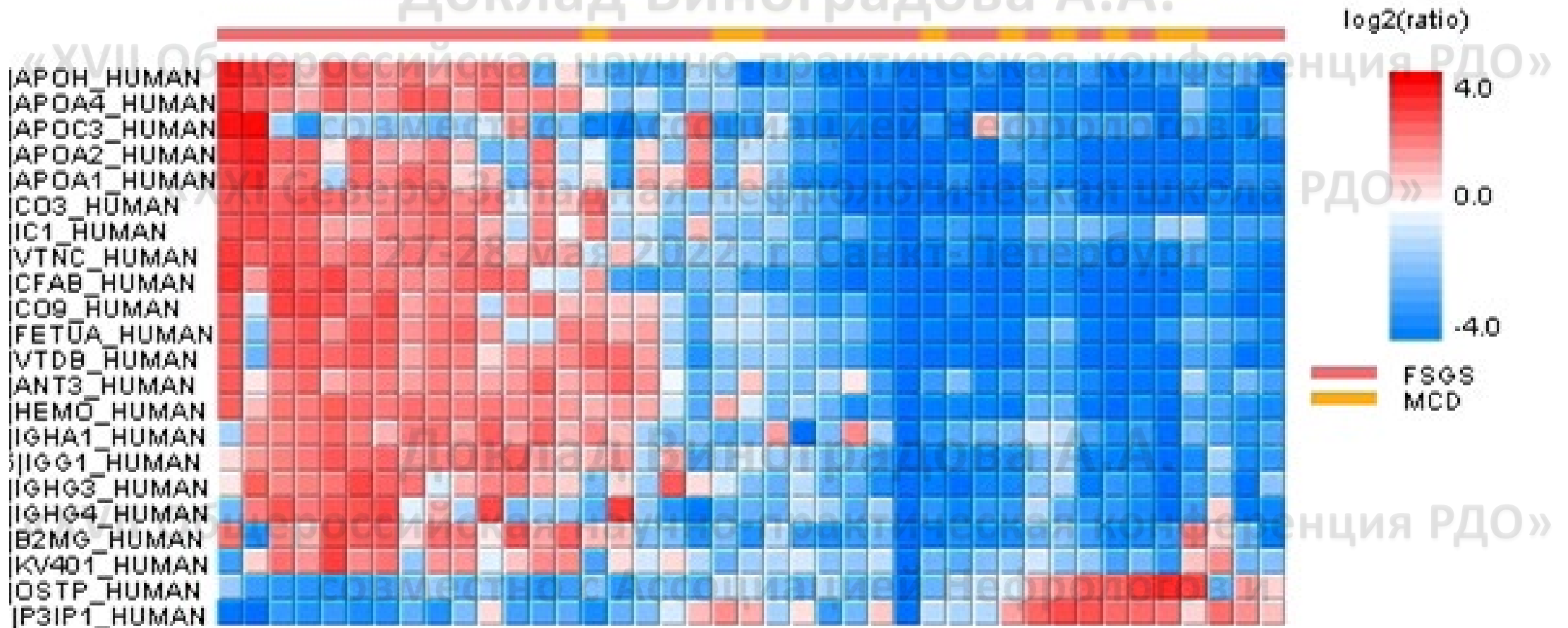
метод ионизации пептидов электроспреем (ESI)

масс-спектрометр TIMS TOF Pro (Bruker Daltonics, США)

- Данные были проанализированы с использованием программного обеспечения PEAKS Studio 8.5.

ФСГС vs БМИ

Доклад Виноградова А.А.



Значимых различий в протеомном спектре мочи больных ФСГС и БМИ не выявлено.

ФСГС: группы по тяжести течения

	Показатель	Баллы
1.	рСКФ СКД-ЕPI > 55	0
	45 - 55	1
	35 - 45	2
	25 - 35 мл/мин	3
2.	Креатинин сыв. > 120 мкмоль/л	1
3.	СПУ < 2	0
	2 - 3	0,5
	3 - 4	1
	4 - 5	1,5
	5 - 6	2
	6 - 7	2,5
≥ 7 гр	3	
4.	Резистентности к терапии ГКС	1

Сумма баллов:

Менее 3

От 3 до 8

Группа 1

- Сохранный функция почек
- Стероид-чувствительный НС

Группа 2

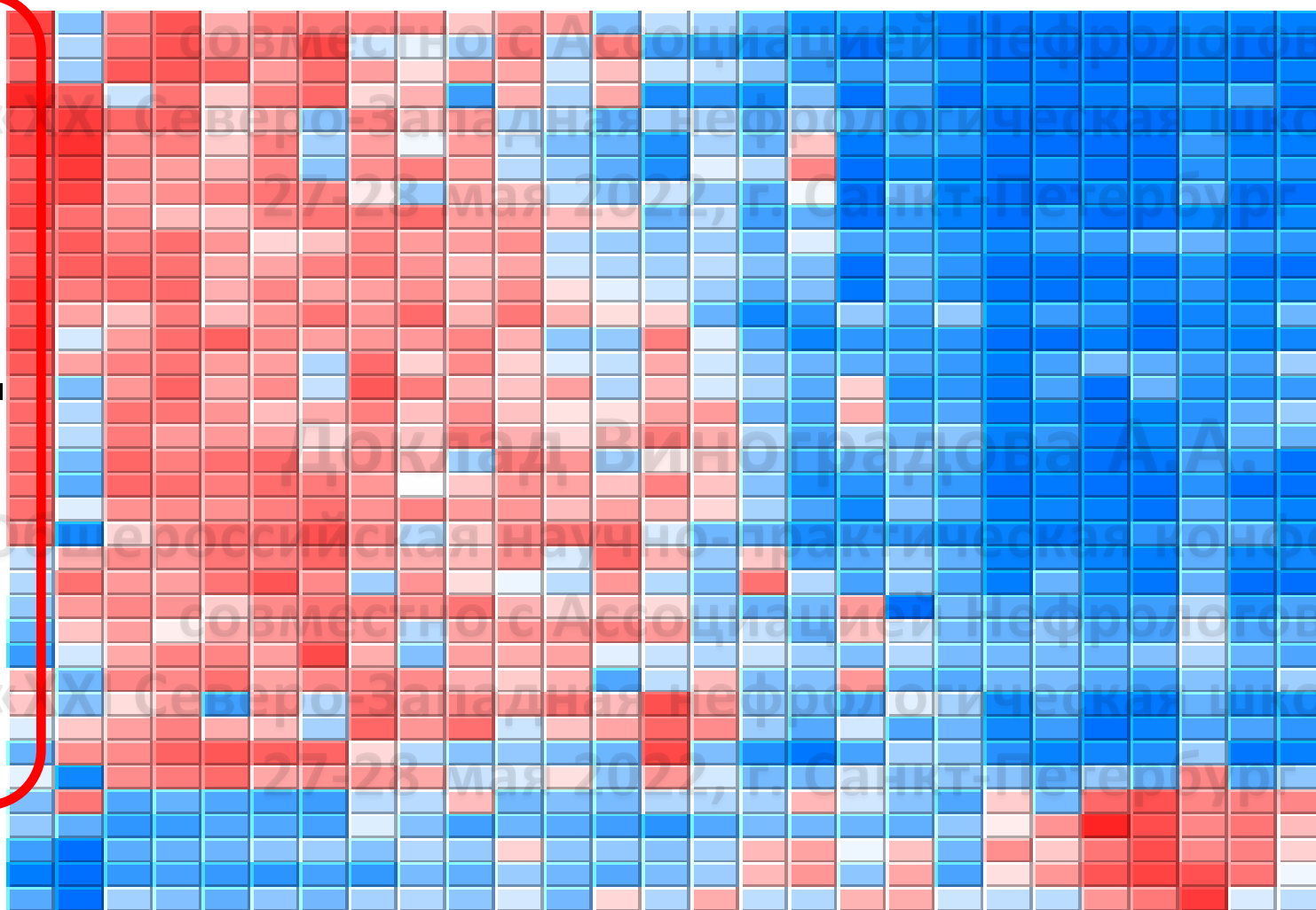
- Наиболее тяжелое течение
- Снижение функции почек
- Резистентность к терапии ГКС

ФСГС: группа «1» vs группа «2»

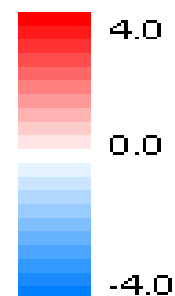
2 группа

1 группа

PEDF_HUMAN
CFAB_HUMAN
CO9_HUMAN
APOB_HUMAN
ITIH2_HUMAN
APOA2_HUMAN
APOA1_HUMAN
ICO4B_HUMAN
APOA4_HUMAN
IC1_HUMAN
CO3_HUMAN
VTNC_HUMAN
RET4_HUMAN
ANGT_HUMAN
THRB_HUMAN
JPGRP2_HUMAN
PLMN_HUMAN
ANT3_HUMAN
FETUA_HUMAN
VTDB_HUMAN
HEMO_HUMAN
B2MG_HUMAN
JIGG1_HUMAN
IGHG3_HUMAN
IGHA1_HUMAN
JIGL1_HUMAN
KV401_HUMAN
A1AT_HUMAN
TTHY_HUMAN
GPX3_HUMAN
IGHG4_HUMAN
A2GL_HUMAN
APBB_HUMAN
OSTP_HUMAN
CD59_HUMAN
IP3IP1_HUMAN
WVFC2_HUMAN



log2(ratio)



1
2

Протеомные маркеры мочи при ФСГС

Повреждение подоцитов:

Группа 2

- Apo A-I¹
- гемопексин
- витронектин²
- фактор роста пигм. эпителия (PEDF)

Группа 1

- остеопонтин
- ингибитор фосфоинозитид-3 киназы

Тубуло-интерстициальное повреждение:

- вит. D-связывающий белок
- ретинол-связывающий белок

Доклад Виноградова А.А.

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

совместно с Ассоциацией Нефрологов и

«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»

27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Доклад Виноградова А.А.

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

совместно с Ассоциацией Нефрологов и

«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»

27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Активация системы комплемента:

2 группа: ↑ C3, C4b, фактор В

↑ компонентов МАК: C8a, C9,

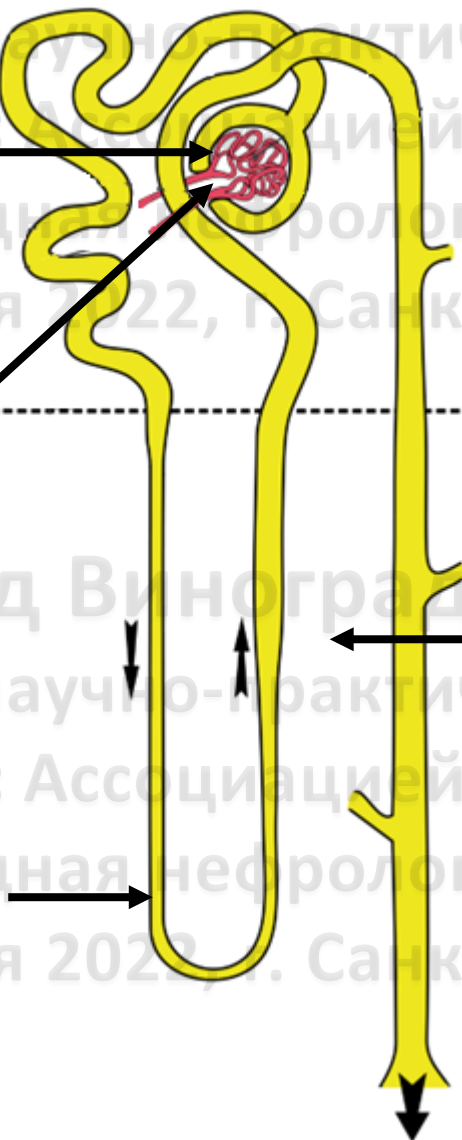
1 группа: ↑ CD59 – ингибитора МАК

Накопление ЭЦМ, интерстициальный фиброз:

• α-2HS-гликопротеин (фетуин-А)

• β2-микроглобулин

• интер-α-трипсиновый ингибитор



¹ Puig-Gay N et al. *Transpl Int* 2019

² Reiser J. *J Am Soc Nephrol*. 2014

ГБМ

Доклад Виноградова А.А.

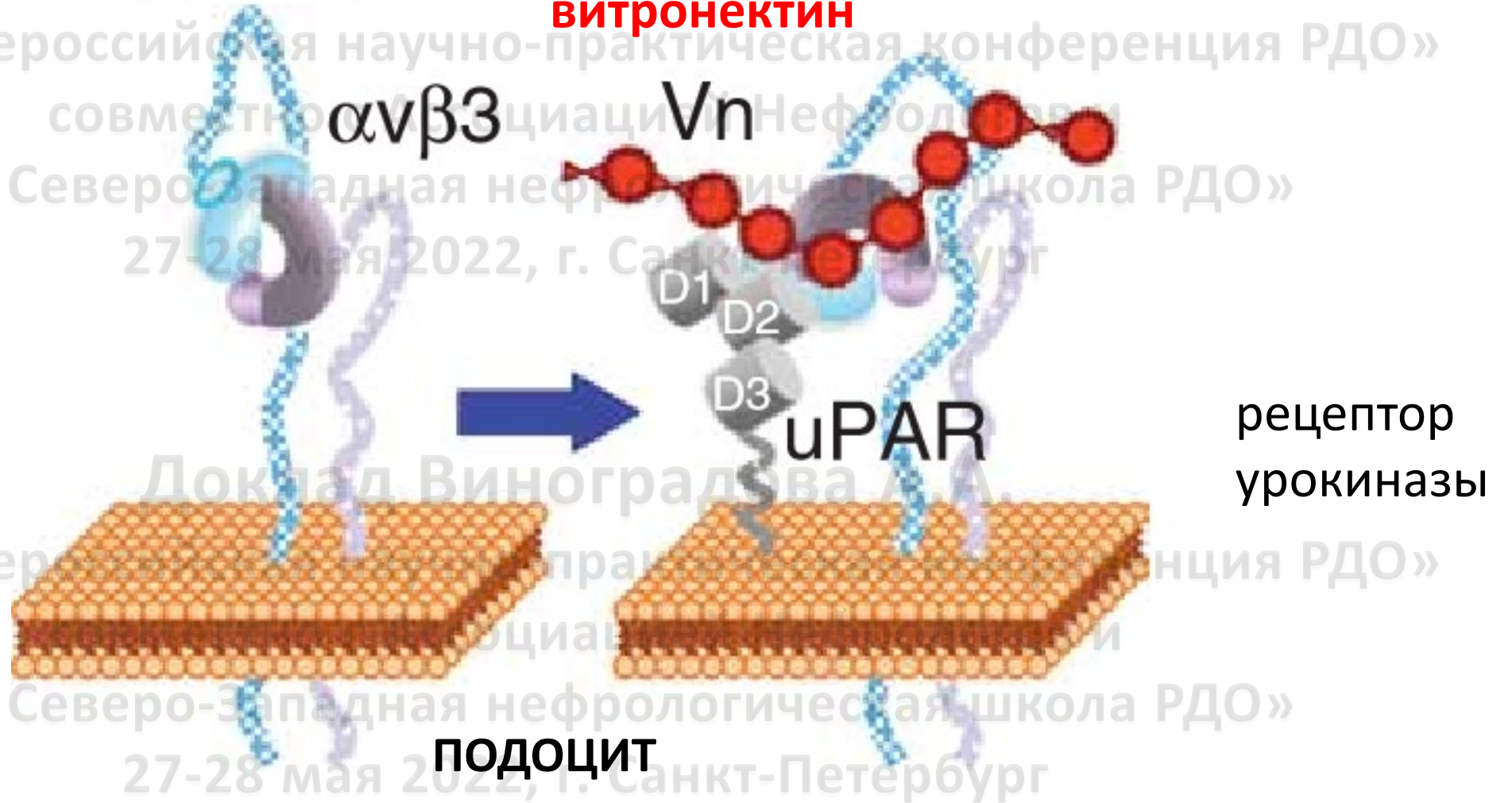
витронектин

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

совместно с Ассоциацией Нефрологов и

«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»

27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург



Доклад Виноградова А.А.

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»

27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Протеомные маркеры мочи при ФСГС

Повреждение подоцитов:

- Группа 2**
- Apo A-I¹
 - гемопексин
 - витронектин²
 - фактор роста пигм. эпителия (PEDF)

- Группа 1**
- остеопонтин
 - ингибитор фосфоинозитид-3 киназы

Тубуло-интерстициальное повреждение:

- вит. D-связывающий белок
- ретинол-связывающий белок

Доклад Виноградова А.А.
«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»
совместно с Ассоциацией Нефрологов и
«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»
27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Доклад Виноградова А.А.
«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»
совместно с Ассоциацией Нефрологов и
«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»
27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Активация системы комплемента:

- 2 группа: ↑ C3, C4b, фактор В
- ↑ компонентов МАК: C8a, C9,
- 1 группа: ↑ CD59 – ингибитора МАК

Накопление ЭЦМ, интерстициальный фиброз:

- α-2HS-гликопротеин (фетуин-А)
- β2-микроглобулин
- интер-α-трипсиновый ингибитор



¹ Puig-Gay N et al. *Transpl Int* 2019

² Reiser J. *J Am Soc Nephrol*. 2014

ГБМ

Доклад Виноградова А.А.

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

совместно с Ассоциацией Нефрологов и

«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»

27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Доклад Виноградова А.А.

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»

27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

витронектин

$\alpha\nu\beta3$

Vn

остеопонтин



- Активация провоспалительных факторов
- Повышение экспрессии uPAR



uPAR

ПОДОЦИТ

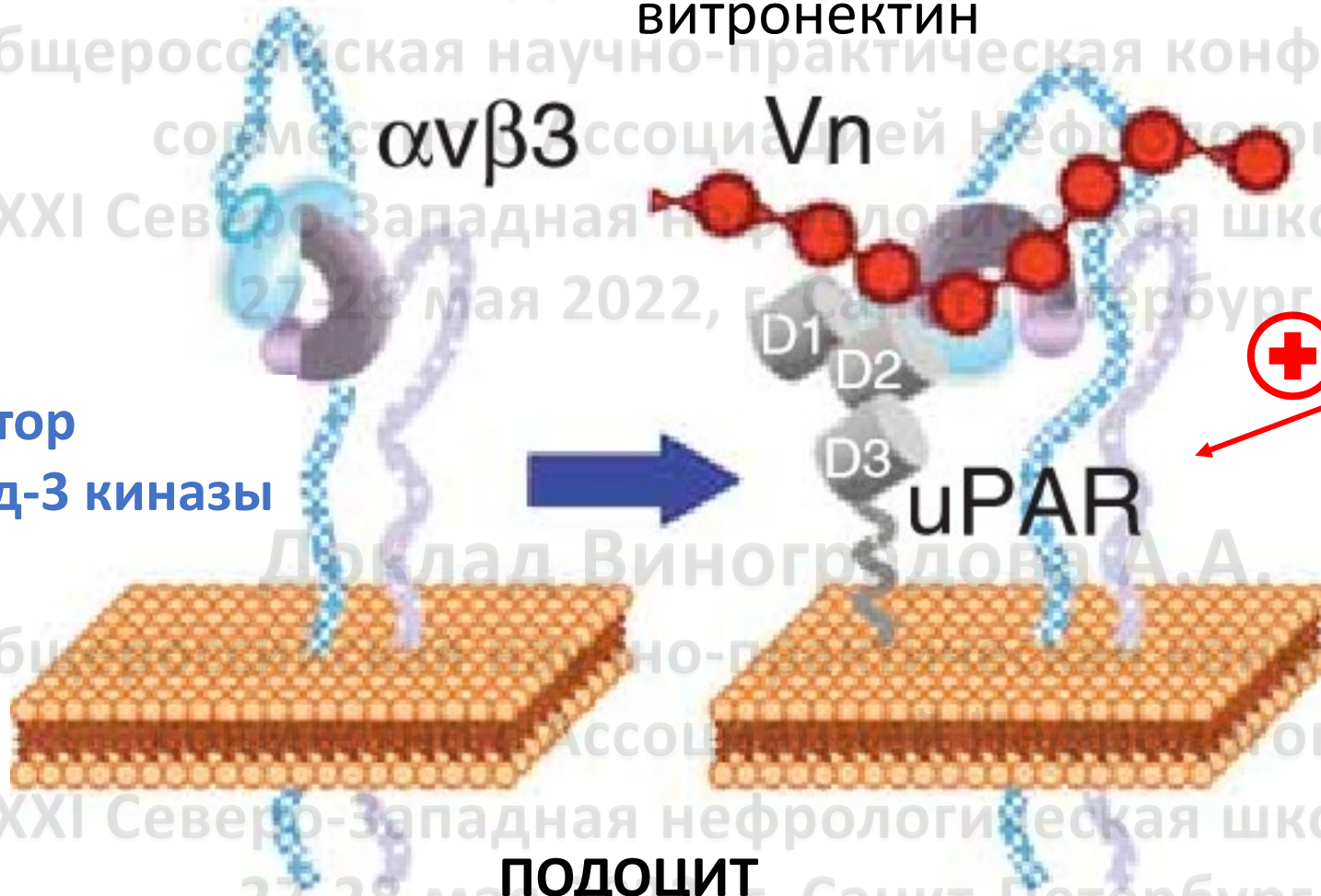
PI3K/АКТ сигнал

Поддержание структуры и жизнеспособности подоцита

Lorenzen J. J Am Soc Nephrol. 2008

Huber, T. B. Mol Cell Biol. 2003

ингибитор
фосфоинозитид-3 киназы



Протеомные маркеры мочи при ФСГС

Повреждение подоцитов:

Группа 2 • Apo A-I¹

- гемопексин
- витронектин²
- фактор роста пигм. эпителия (PEDF)

Группа 1 • остеопонтин

- ингибитор фосфоинозитид-3 киназы

Тубуло-интерстициальное повреждение:

- вит. D-связывающий белок
- ретинол-связывающий белок

Активация системы комплемента:

2 группа: ↑ C3, C4b, фактор В

↑ компонентов МАК: C8a, C9,

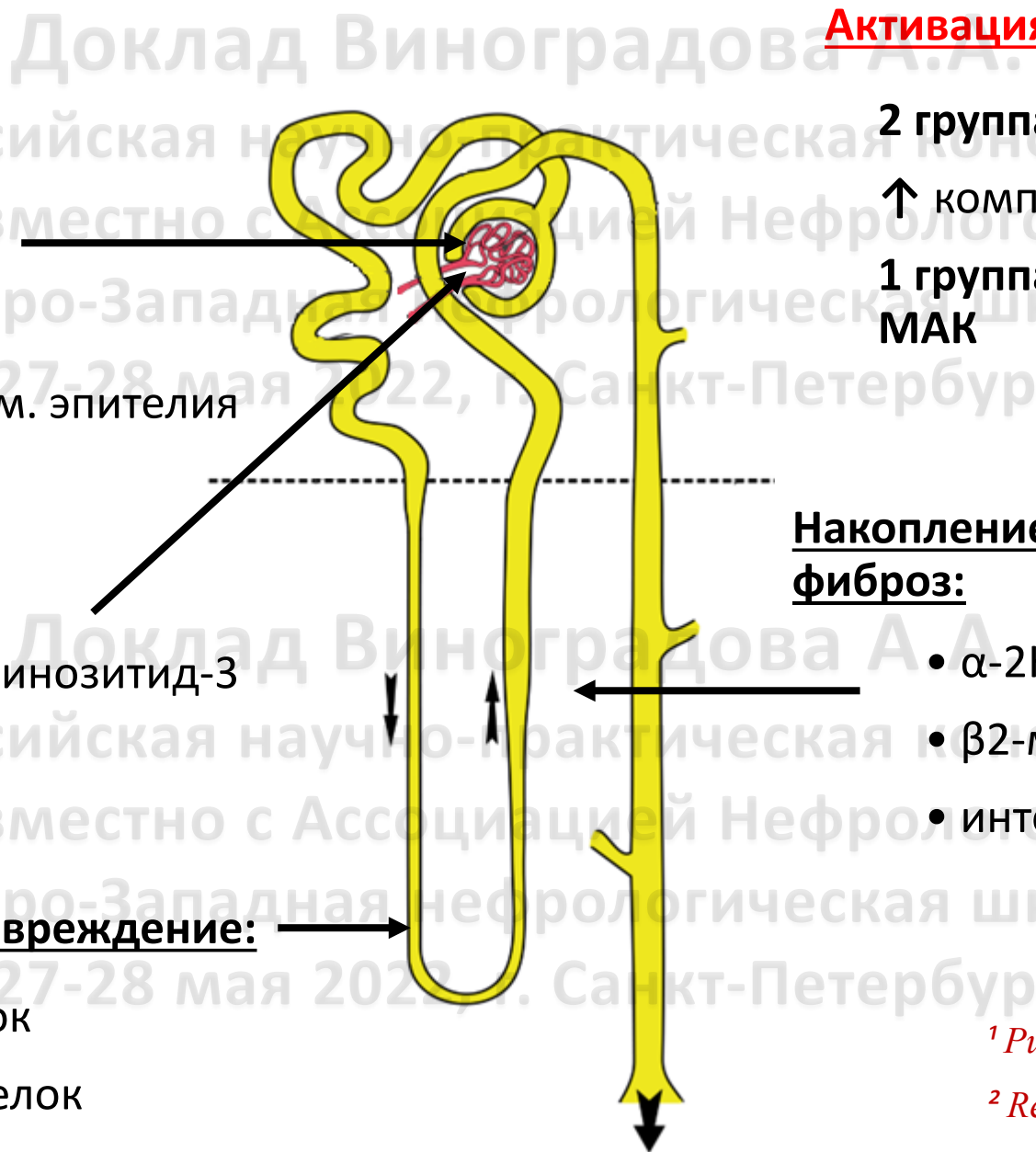
1 группа: ↑ CD59 – ингибитора МАК

Накопление ЭЦМ, интерстициальный фиброз:

• α-2HS-гликопротеин (фетуин-А)

• β2-микроглобулин

• интер-α-трипсиновый ингибитор



¹ Puig-Gay N et al. *Transpl Int* 2019

² Reiser J. *J Am Soc Nephrol*. 2014

Протеомные маркеры мочи при ФСГС

Повреждение подоцитов:

- Группа 2**
- Apo A-I¹
 - гемопексин
 - витронектин²
 - фактор роста пигм. эпителия (PEDF)

- Группа 1**
- остеопонтин
 - ингибитор фосфоинозитид-3 киназы

Тубуло-интерстициальное повреждение:

- вит. D-связывающий белок
- ретинол-связывающий белок

Доклад Виноградова А.А.
«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»
совместно с Ассоциацией Нефрологов и
«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»
27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

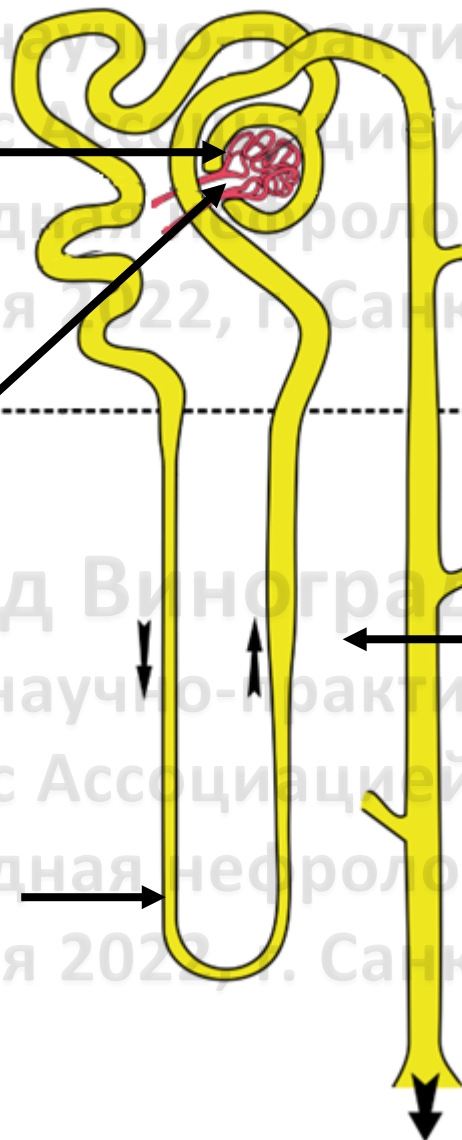
Доклад Виноградова А.А.
«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»
совместно с Ассоциацией Нефрологов и
«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»
27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Активация системы комплемента:

- 2 группа:** ↑ C3, C4b, фактор В
↑ компонентов МАК: C8a, C9,
1 группа: ↑ CD59 – ингибитора МАК

Накопление ЭЦМ, интерстициальный фиброз:

- α-2HS-гликопротеин (фетуин-А)
- β2-микроглобулин
- интер-α-трипсиновый ингибитор



¹ Puig-Gay N et al. *Transpl Int* 2019

² Reiser J. *J Am Soc Nephrol*. 2014

Протеомные маркеры мочи при ФСГС

Повреждение подоцитов:

Группа 2 • Apo A-I¹

- гемопексин
- витронектин²
- фактор роста пигм. эпителия (PEDF)

Группа 1 • остеопонтин

- ингибитор фосфоинозитид-3 киназы

Тубуло-интерстициальное повреждение:

- вит. D-связывающий белок
- ретинол-связывающий белок

Доклад Виноградова А.А.

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

совместно с Ассоциацией Нефрологов и

«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»

27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Доклад Виноградова А.А.

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

совместно с Ассоциацией Нефрологов и

«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»

27-28 мая 2022, г. Санкт-Петербург

Активация системы комплемента:

2 группа: ↑ C3, C4b, фактор В

↑ компонентов МАК: C8a, C9,

1 группа: ↑ CD59 – ингибитора МАК

Накопление ЭЦМ, интерстициальный фиброз:

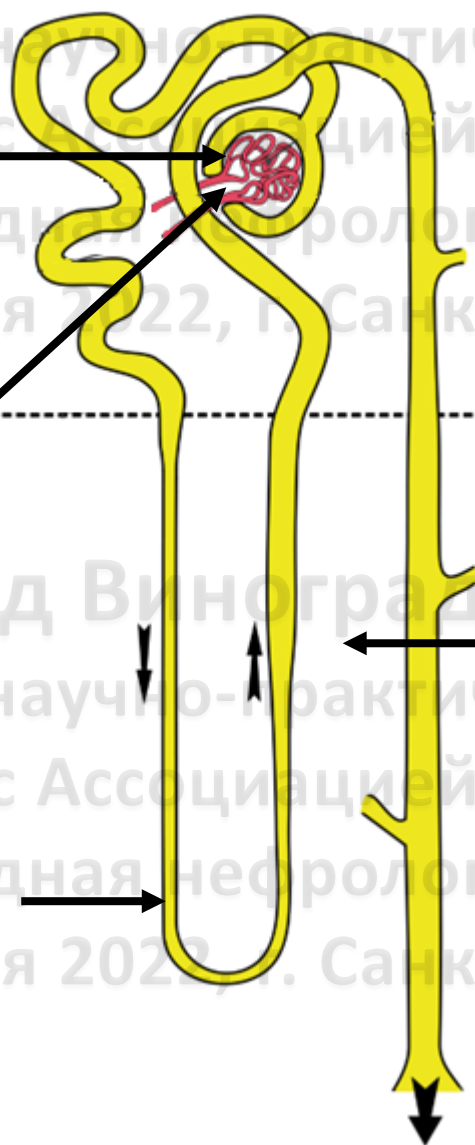
• α-2HS-гликопротеин (фетуин-А)

• β2-микроглобулин

• интер-α-трипсиновый ингибитор

¹ Puig-Gay N et al. *Transpl Int* 2019

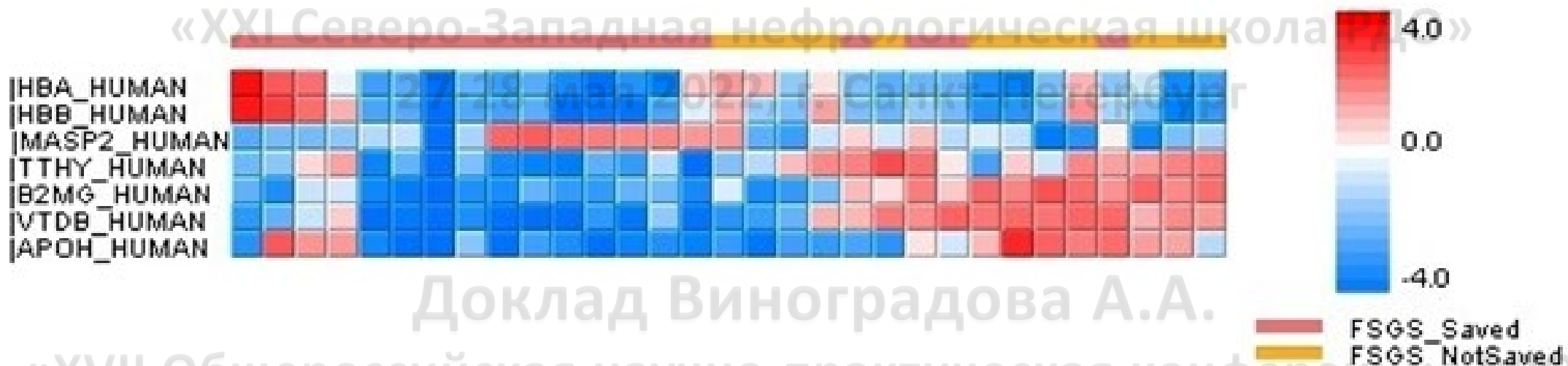
² Reiser J. *J Am Soc Nephrol*. 2014



ФСГС: сохранная vs нарушенная функция почек

«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

совместно с Ассоциацией Нефрологов и
рСКФ ≥ 60 мл/мин рСКФ < 60 мл/мин $\log_2(\text{ratio})$

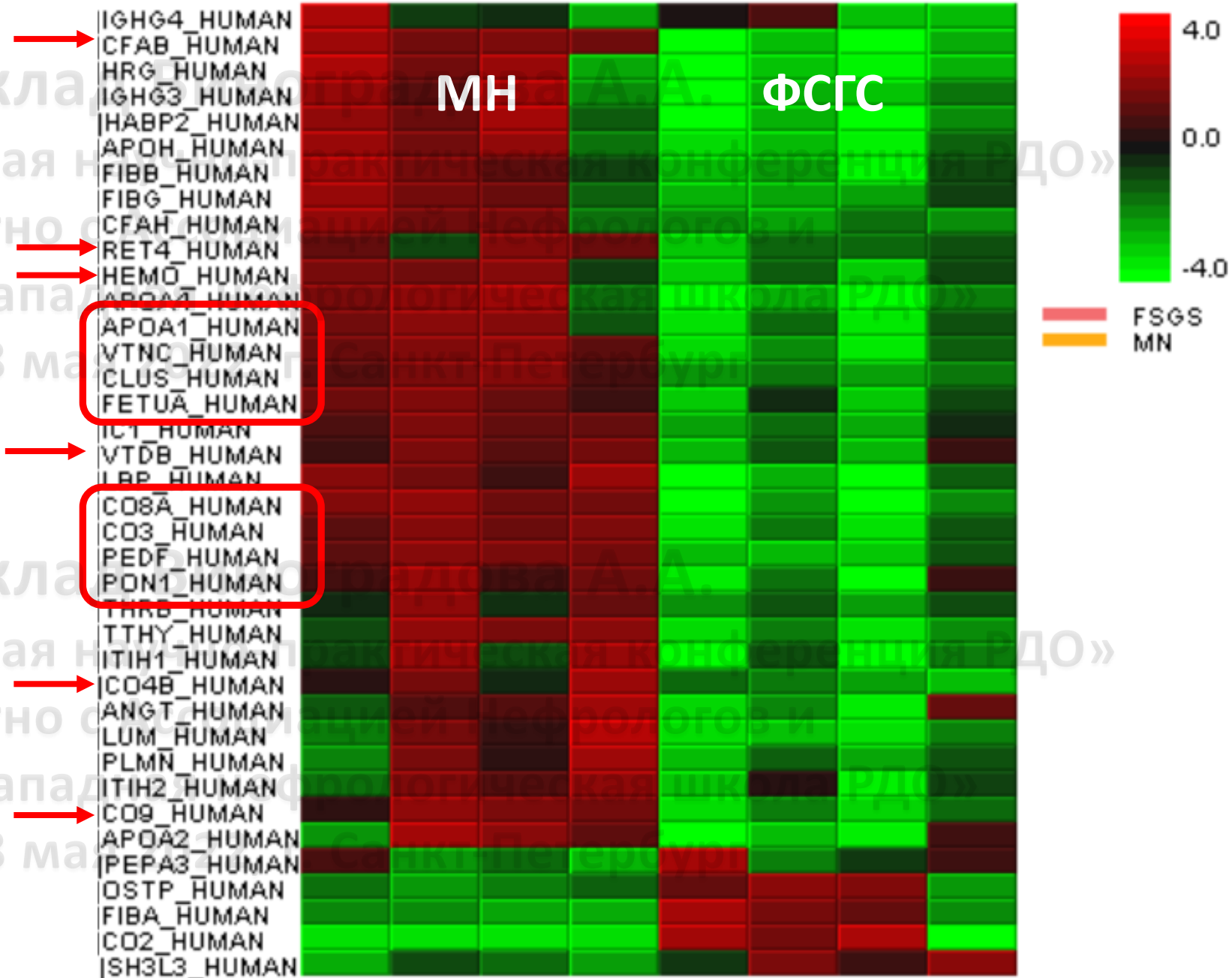


При нарушенной функции почек:

- транстиретин,
- $\beta 2$ -микроглобулин,
- витамин-Д-связывающий белок,
- альфа-2-HS-гликопротеин

ФСГС vs Мембранозная нефропатия

Повышены при ФСГС



ФСГС vs Мембранозная нефропатия

IGHG4_HUMAN
CFAB_HUMAN
HRG_HUMAN
IGHG3_HUMAN
HABP2_HUMAN
APOH_HUMAN
FIBB_HUMAN
FIBG_HUMAN
CFAH_HUMAN
RET4_HUMAN
HEMO_HUMAN
APOA4_HUMAN
APOA1_HUMAN
VTNC_HUMAN
CLUS_HUMAN
FETUA_HUMAN
IC1_HUMAN
VTDB_HUMAN
LBP_HUMAN
CO8A_HUMAN
CO3_HUMAN
PEDF_HUMAN
PON1_HUMAN
THR8_HUMAN
TTHY_HUMAN
ITIH1_HUMAN
IC04B_HUMAN
ANGT_HUMAN
LUM_HUMAN
PLMN_HUMAN
ITIH2_HUMAN
CO9_HUMAN
APOA2_HUMAN
PEPA3_HUMAN
OSTP_HUMAN
FIBA_HUMAN
CO2_HUMAN
ISH3L3_HUMAN

МН

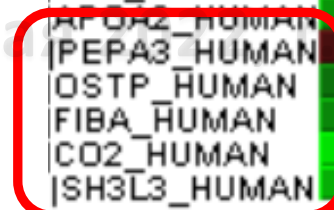
ФСГС

log2(ratio)



FSGS
MN

Повышены при МН



MN: сохранная vs нарушенная функция почек

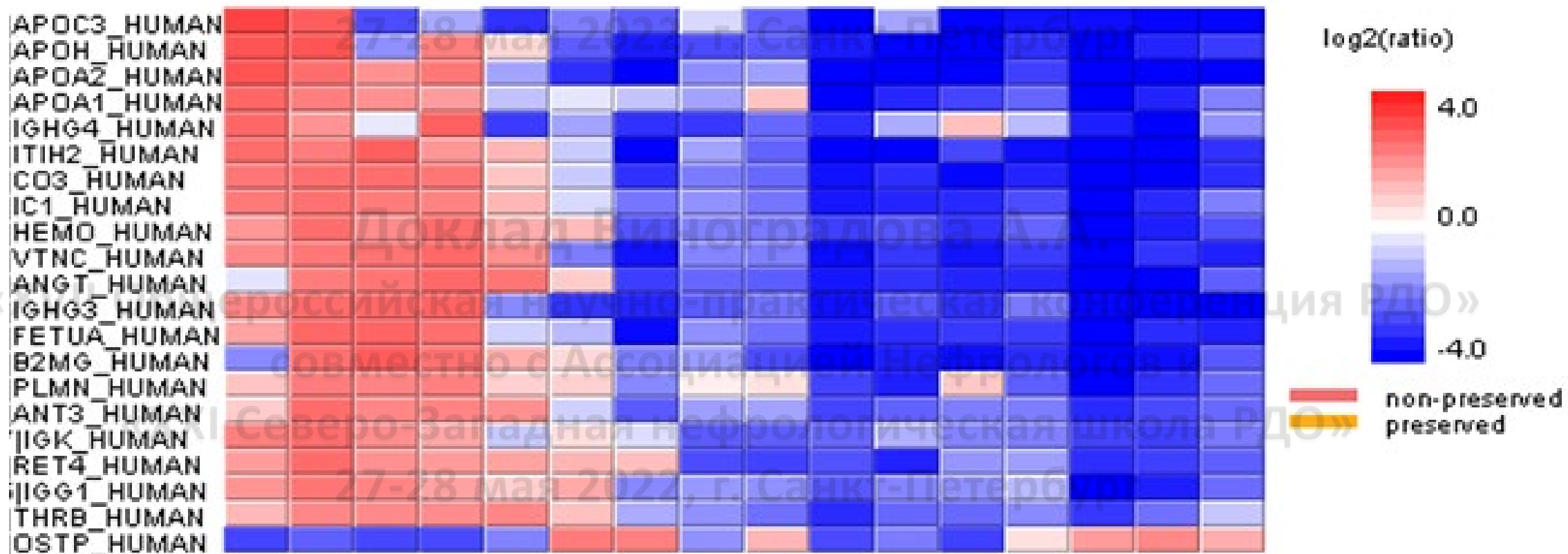
«XVII Общероссийская научно-практическая конференция РДО»

совместно с Ассоциацией Нефрологов и

«XXI Северо-Западная нефрологическая школа РДО»

СКФ < 60 мл/мин

СКФ ≥ 60 мл/мин



Заключение

- Протеомный профиль мочи сопоставим у больных с ФСГС и БМИ;
- У больных со стероид-резистентным НС протеом мочи отличается большим спектром белков, чем у больных со стероид-чувствительным НС и отражает активацию одновременно нескольких процессов:
 - 1) массивное повреждение подоцитов,
 - 2) тубуло-интерстициальное повреждение,
 - 3) накопление ЭЦМ,
 - 4) активацию комплемента;
- Спектр экскретируемых с мочой белков у больных ФСГС и МН достоверно отличается:
 - При ФСГС кластеризуется 33 специфических белка, которые можно сгруппировать по повреждению отдельных сегментов нефрона (подоцитов, клеток канальцев и интерстиция почки);
 - При МН выделено 4 специфических белка, отражающих активацию комплемента и повреждение подоцитов.