

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ
Клинические исследования

ORIGINAL ARTICLES
Clinical investigations

© А.А. Виноградов, Н.В. Чеботарева, А.Е. Бугрова, А.Г. Бржозовский, Т.Н. Краснова, С.В. Моисеев, А.С. Кононихин, 2023
УДК [616.61-008.6-053.1-021.3] : 616-003.261

doi: 10.36485/1561-6274-2023-27-1-41-47

**ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ МОЧИ У БОЛЬНЫХ
С ПЕРВИЧНЫМИ ПОДОЦИТОПАТИЯМИ**

*Анатолий Александрович Виноградов¹✉, Наталья Викторовна Чеботарева²,
Анна Евгеньевна Бугрова³, Александр Геннадьевич Бржозовский⁴,
Татьяна Николаевна Краснова⁵, Сергей Валентинович Моисеев⁶,
Алексей Сергеевич Кононихин^{4,7}*

^{1,5} Кафедра внутренних болезней, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия;

^{2,6} кафедра внутренних, профессиональных болезней и ревматологии, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

³ лаборатория нейрхимии, Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля, Москва, Россия;

^{4,7} лаборатория масс-спектрометрии и омиксных технологий, Сколковский институт науки и технологии, Москва, Россия

¹ anatoliy_vinogradov@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7529-0215>

² natasha_tcheb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2128-8560>

³ anna.bugrova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4568-7507>

⁴ agb.imbp@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1128-1795>

⁵ krasnovamgu@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6175-1076>

⁶ avt420034@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7232-4640>

⁷ a.kononikhin@skoltech.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2238-3458>

РЕФЕРАТ

ВВЕДЕНИЕ. Первичный фокальный сегментарный гломерулосклероз (ФСГС), наряду с мембранозной нефропатией (МН), представляют собой заболевания с первичным повреждением подоцитов, проявляющиеся высокой протеинурией и нефротическим синдромом. В то время как при первичной МН механизмы достаточно хорошо изучены, патогенез первичного ФСГС до настоящего времени неизвестен, в связи с чем актуальной задачей является поиск биомаркеров, которые могли бы расширить наши представления о его патогенетических механизмах. **ЦЕЛЬ:** определить особенности протеомного профиля мочи пациентов с первичными подоцитопатиями – ФСГС в сравнении с МН. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследование включены 48 пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом ХГН, протекающего с нефротическим синдромом – 32 мужчины и 16 женщин. У 18 пациентов наблюдалось снижение скорости клубочковой фильтрации < 60 мл/мин/1,73 м². Всем пациентам проведена биопсия почки и верифицирован морфологический диагноз: 31 пациент – ФСГС, в качестве группы сравнения включено 17 больных с МН. Исследование протеома мочи проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У больных ФСГС по сравнению с группой МН было отмечено повышенное содержание 22 различных белков, наиболее значимыми являлись апо-липопротеин А-I, гемопексин, витронектин, фактор роста пигментного эпителия, компоненты системы комплемента (С3, С4b, факторы В и Н), ретинол- и витамин D-связывающие белки, альфа-2-HS-гликопротеин, богатый гистидином гликопротеин, плазменный протеазный ингибитор С1. При МН была выявлена повышенная экскреция с мочой С2 компонента комплемента, альфа-цепи фибриногена, остеопонтинина и SH3-связывающего домена протеина 3, богатого глутаминовой кислотой. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Протеомный профиль мочи при ФСГС в отличие от МН отражает активацию одновременно нескольких патологических процессов – повреждения подоцита, вовлечение париетальных эпителиальных клеток, тубулоинтерстициального повреждения и накопления экстрацеллюлярного матрикса. Также отмечена активация комплемента по альтернативному и классическому пути.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, фокальный сегментарный гломерулосклероз, протеомика мочи, масс-спектрометрия

Для цитирования: Виноградов А.А., Чеботарева Н.В., Бугрова А.Е., Бржозовский А.Г., Краснова Т.Н., Моисеев С.В., Кононихин А.С. Особенности протеомного профиля мочи у больных с первичными подоцитопатиями. *Нефрология* 2023;27(1):41-47. doi: 10.36485/1561-6274-2023-27-1-41-47

URINE PROTEOME PROFILE IN PRIMARY PODOCYTOPATHIES

*Anatoliy A. Vinogradov¹✉, Natalia V. Chebotareva², Anna E. Bugrova³,
Alexander G. Brzhozovskij⁴, Tatyana N. Krasnova⁵, Sergey V. Moiseev⁶,
Alexey S. Kononikhin⁷*

^{1,5} Department of Internal Medicine, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia,

^{2,6} Department of Internal, Occupational Diseases and Rheumatology, First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov (Sechenov University), Moscow, Russia

³ Laboratory of Neurochemistry, Institute of Biochemical Physics named after N.M. Emanuel, Moscow, Russia

^{4,7} Laboratory of Mass Spectrometry and Omix Technologies, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

¹ anatoliy_vinogradov@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7529-0215>

² natasha_tcheb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2128-8560>

³ anna.bugrova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4568-7507>

⁴ agb.imbp@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1128-1795>

⁵ krasnovamgu@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6175-1076>

⁶ avt420034@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7232-4640>

⁷ a.kononikhin@skoltech.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2238-3458>

ABSTRACT

BACKGROUND. Primary focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) and membranous nephropathy (MN) are diseases with primary podocyte damage with high proteinuria and nephrotic syndrome. While the mechanisms in primary MN are well understood, the pathogenesis of primary FSGS is still unknown, and therefore, the search for biomarkers that could expand our understanding of its pathogenetic mechanisms. **THE AIM:** to determine the urine proteomic profile of patients with primary podocytopathies – FSGS in comparison with MN. **PATIENTS AND METHODS.** The study included 48 patients with a morphologically confirmed diagnosis of CGN occurring with nephrotic syndrome – 32 men and 16 women. In 18 patients, a decrease in glomerular filtration rate $< 60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ was observed. The histological diagnosis was confirmed by biopsy: 31 patients had FSGS, 17 patients with MN were included as a comparison group. The study of the urinary proteome was carried out by high performance liquid chromatography/mass spectrometry. **RESULTS.** In patients with FSGS, compared with the MN group, an increased content of 22 different proteins was noted, the most abundant were apolipoprotein A-I, hemopexin, vitronectin, pigment epithelial growth factor, components of the complement system (C3, C4b, factors B and H), retinol – and vitamin D-binding proteins, alpha-2-HS-glycoprotein, histidine-rich glycoprotein, plasma C1 protease inhibitor. In MN, increased urinary excretion of the complement component C2, fibrinogen alpha chain, osteopontin, and the SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3, was detected. **CONCLUSION.** The proteomic profile of urine in FSGS, compared to MN, reflects the activation of variety of pathological processes – podocyte damage, involvement of parietal epithelial cells, tubulo-interstitial damage, accumulation of extracellular matrix, and complement activation process.

Keywords: chronic glomerulonephritis, focal segmental glomerulosclerosis, urinary proteomics, mass spectrometry

For citation: Vinogradov A.A., Chebotareva N.V., Bugrova A.E., Brzhozovsky A.G., Krasnova T.N., Moiseev S.V., Kononikhin A.S. Urine proteome profile in primary podocytopathies. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2023;27(1):41-47 (In Russ.). doi: 10.36485/1561-6274-2023-27-1-41-47

ВВЕДЕНИЕ

Первичный фокальный сегментарный гломерулосклероз (ФСГС), наряду с мембранозной нефропатией (МН), представляют собой заболевания с первичным повреждением подоцитов (первичные подоцитопатии), проявляющиеся высокой протеинурией и нефротическим синдромом [1, 2]. ФСГС в отличие от мембранозной нефропатии часто имеет резистентное к терапии течение и неблагоприятный прогноз с быстрым прогрессированием почечной дисфункции [2–4]. Если при первичной мембранозной нефропатии установлено значение продукции антител к подоцитарным антигенам, например, к рецептору фосфолипазы A2 (aPLA2R) на поверхности подоцитов, то патогенез первичного ФСГС до настоящего времени неизвестен. В связи с чем актуальной задачей является поиск биомаркеров, которые могли бы расширить наши представления о патогенетических механизмах ФСГС.

Подходы, основанные на масс-спектрометрии (МС), являются наиболее объективными и чувствительными инструментами, которые уже предоставили большую часть известной в настоящее время информации о содержании пептидов и белков в моче в различных нефропатиях [5–7]. В отличие от биопсии почки протеомный анализ мочи

является безопасным вариантом и имеет хорошие перспективы для разработки неинвазивных методов диагностики. Исследование мочи имеет ряд преимуществ по сравнению с протеомным анализом крови [8]. Протеом мочи содержит в основном (до 70 %) белки и пептиды почечного происхождения [9, 10]. В целом, этот подход является наиболее подходящим для поиска потенциальных биомаркеров и патогенетических механизмов развития и прогрессирования заболеваний почек.

Целью нашего исследования было охарактеризовать изменения протеомного состава мочи у больных фокальным сегментарным гломерулосклерозом в сравнении с мембранозной нефропатией для определения специфических патогенетических звеньев и мочевых биомаркеров этих подоцитопатий.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Клиническая характеристика обследованных пациентов

Пациенты с морфологически подтвержденным диагнозом хронического гломерулонефрита (ХГН) (n=48), протекающего с нефротическим синдромом, были набраны для исследования на базе Клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева, 32 мужчины

и 16 женщин, в возрасте от 19 до 75 лет, медиана – 48 лет (34,3; 58,3). Критериями исключения являлись: активная мочевиная инфекция, сахарный диабет, морбидное ожирение, тяжелая артериальная гипертензия, заболевания печени, поражение почек в рамках ревматических системных заболеваний, хроническая болезнь почек 5 стадии. Всем пациентам в порядке стандартного обследования была выполнена биопсия почки: у 31 пациента установлен морфологический вариант ФСГС, в качестве группы сравнения в анализ включили 17 больных с мембранозной нефропатией. Нарушение функции почек (рСКФ СКД-EPI < 60 мл/мин/1,73 м²) было у 18 пациентов, сохранная функция почек – у 30 (рСКФ СКД-EPI > 60 мл/мин/1,73 м²).

Характеристика обследованных пациентов представлена в табл. 1.

Хромато-масс-спектрометрический анализ мочи

Анализ смеси триптических пептидов, полученной в результате нескольких этапов пробоподготовки мочи, проводили на системе высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) «Dionex Ultimate 3000» («Thermo Fisher Scientific», США), соединенной с масс-спектрометром «TIMS TOF Pro» («Bruker Daltonics», США), с использованием метода сбора данных с помощью параллельного накопления и последовательной фрагментации (PASEF), метод ионизации пептидов – электроспрей (ESI). Полученные данные были проанализированы с использованием программного обеспечения PEAKS Studio 8.5.

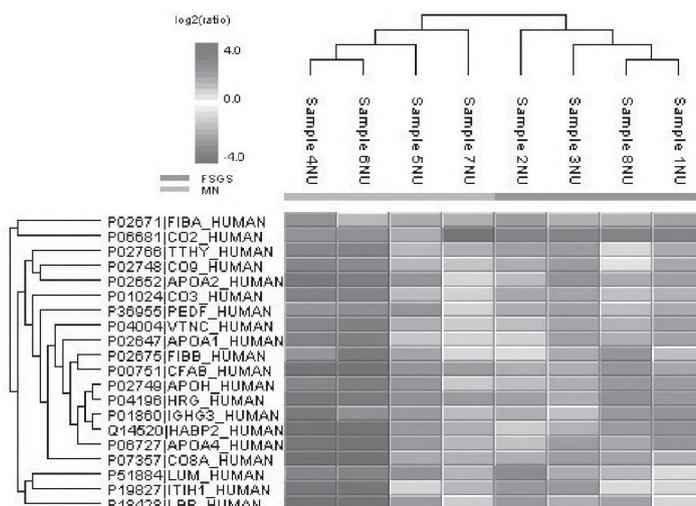


Рисунок. Пример кластеризации образцов мочи по уровню белков при фокальном сегментарном гломерулосклерозе (ФСГС) и мембранозной нефропатии (МН).

Figure. Example of protein clustering of urine samples in focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) and membranous nephropathy (MN).

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам проведенного протеомного анализа мочи у больных с двумя формами первичных подоцитопатий при ФСГС можно выделить группы белков, отражающих различные патологические процессы (табл. 2).

На рисунке представлены различия в экскреции белков при двух изученных подоцитопатиях (полуколичественный метод) (рисунок).

К белкам-кандидатам, специфичным преимущественно для повреждения подоцитов при ФСГС, относятся апо-липопротеин А-I (Apo-I), гемопексин, витронектин и фактор роста пигментного эпителия (Pigment epithelium-derived factor или PEDF). В моче у больных с мембранозной нефропатией, протекающей с нефротическим синдромом, экскреция этих

белков с мочой значимо не изменялась. Увеличение в моче сывороточной параоксоназы и арилэстеразы 1 является следствием потери этих ферментов через поврежденную гломерулярную базальную мембрану (ГБМ).

Мы обнаружили повышение экскреции с мочой компонентов компонента С3, С4b, а также факторов В и Н, что отражает участие системы компонента в повреждении ткани почки у больных с ФСГС.

Появление в моче ретинол- и витамин-D-связывающих белков является следствием тубулоинтерстициального воспаления и повреждение тубулярного эпителия, которое развивается вторично по отношению к клубочкам. Кластерин –

Таблица 1 / Table 1

Клиническая характеристика больных
Clinical characteristics of patients

Показатели	ФСГС ¹ (n=31)	МН ² (n=17)
Возраст, годы	43 (27,5; 58,5)	51 (47; 57)
Пол (мужской), n (%)	19 (61,3)	13 (76,5)
Артериальная гипертензия, n (%)	23 (74,2)	13 (76,5)
Протеинурия, г/сут	3,41 (2,5; 5)	3,57 (2,88; 4,71)
Альбумин сыворотки, г/л	26,5 (20,5; 33,25)	26,6 (23,3; 30,6)
Общий белок сыворотки, г/л	48,8 (40,75; 58,05)	47,6 (45,1; 53,9)
Креатинин, мкмоль/л	105,03 (78,21; 151,0)	93,7 (81,37; 116,6)
рСКФСКД-EPI ³ , мл/мин/1,73 м ²	67,16 (41,6; 97,21)	78,77 (59,93; 89,2)
Количество больных с СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м ² , n (%)	13 (41,9)	5 (29,4)

¹ Фокальный сегментарный гломерулосклероз; ² мембранозная нефропатия, ³ расчетная скорость клубочковой фильтрации по формуле СКД-EPI.

В таблице представлена медиана показателей, в скобках – 1-й и 3-й квартили.

¹ Focal segmental glomerulosclerosis; ² Membranous nephropathy; ³ Estimated glomerular filtration rate using the CKD-EPI formula.

The table shows the median of indicators, in brackets – the 1st and 3rd quartiles.

Таблица 2 / Table 2

Белки, дифференцирующие фокальный сегментарный гломерулосклероз (ФСГС), мембранозную нефропатию (МН)

Proteins differentiating focal segmental glomerulosclerosis (FSGS), membranous nephropathy (MN)

Белок	Код по базе Uniprot	ФСГС	МН
Альфа-2HS-гликопротеин	P02765 FETUA	↑	
Ангиотензиноген	P01019 ANGT	*	
Аполипопротеин А-I	P02647 APOA1	↑	
Аполипопротеин А-II	P02652 APOA2	*	
Аполипопротеин А-IV	P06727 APOA4	↑	
Бета-2-гликопротеин 1	P02749 APOH	↑	
Кластерин	P10909 CLUS	↑	
Компонент комплемента C2	P06681 CO2		↑
Компонент комплемента C3	P01024 CO3	↑	
Компонент комплемента C4-B	P0C0L5 CO4B	*	
Компонент комплемента C8, альфа-цепь	P07357 CO8A	↑	
Компонент комплемента C9	P02748 CO9	*	
Фактор В системы комплемента	P00751 CFAB	↑	
Фактор Н системы комплемента	P08603 CFAN	↑	
Фибриноген, альфа-цепь	P02671 FIBA		↑
Фибриноген, бета-цепь	P02675 FIBB	↑	
Фибриноген, гамма-цепь	P02679 FIBG	↑	
Гемопексин	P02790 HEMO	↑	
Гликопротеин, богатый гисти-дином	P04196 HRG	↑	
Гиалуронан-связывающий белок 2	Q14520 HABP2	↑	
Константный домен тяжелой цепи иммуноглобулина гамма 3	P01860 IGHG3	↑	
Константный домен тяжелой цепи иммуноглобулина гамма 4	P01861 IGHG4	*	
Ингибитор интер-альфа-трипсина, тяжелая цепь Н1	P19827 ITIH1	*	
Ингибитор интер-альфа-трипсина, тяжелая цепь Н2	P19823 ITIH2	*	
Липополисахарид-связывающий белок	P18428 LBP	↑	
Люмикан	P51884 LUM	*	
Остеопонтин	P10451 OSTP		↑
Пепсин А-3	P0DJD8 PEPA3		*
Фактор роста пигментного эпителия	P36955 PEDF	↑	
Плазменный протеазный ингибитор С1	P05155 IC1	↑	
Плазминоген	P00747 PLMN	*	
Протромбин	P00734 THRB	*	
Ретинол-связывающий белок 4	P02753 RET4	↑	
Сывороточная параоксоназа/арилэстераза 1	P27169 PON1	↑	
SH3-связывающий домен протеина 3, богатый глутаминовой кислотой	Q9H299 SH3L3		↑
Транстретин	P02766 TTHY	*	
Витамин-D-связывающий белок	P02774 VTDB	↑	
Витронектин	P04004 VTNC	↑	

↑ Белки с повышенным уровнем содержания в образцах мочи одной из групп сравнения, наиболее потенциальные маркеры; * вероятные маркеры.

↑ proteins with an increased level in urine samples of one of the comparison groups, the most potential markers; * probable markers.

защитный белок, действующий подобно белкам теплового шока и уменьшающий степень воспалительной инфильтрации клетками.

Одновременно с процессами интерстициального воспаления активируются механизмы накопления компонентов экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) и тубулоинтерстициального фиброза. Фибриноген, альфа-2-HS-гликопротеин, богатый гистицином гликопротеин, плазменный протеазный ингибитор С1 можно отнести к группе белков, отвечающих за активные процессы накопления ЭЦМ, экспрессию рецепторов на клетках, обмен белков ЭЦМ. Гиалуронан-связывающий белок 2 и тяжелые цепи Н1 и Н2 ингибитора интер-альфа-трипсина (Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain Н1 и Н2), по-видимому, отражают активацию процессов гломерулосклероза.

В моче у больных с МН по сравнению с больными с ФСГС было обнаружено повышение С2-компонента комплемента, альфа-цепи фибриногена, остеопонтина и SH3-связывающего домена протеина 3, богатого глутаминовой кислотой (SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам проведенного исследования наибольшее количество белковых молекул было выявлено у больных с ФСГС. При этом можно выделить несколько групп белков, свидетельствующих об активации различных звеньев повреждения. Первая группа белков отражает процесс вовлечения подоцитов. В нашем исследовании повышение уровня *ApoA-1*, небольшого белка (28 кДа), компонента липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), в моче у больных с ФСГС позволяет также предполагать потенциальную роль этого белка в патогенезе ФСГС. В исследовании N. Puig-Gay и соавт. повышение *ApoA-1b* в моче отмечалось непосредственно перед появлением протеинурии у больных с рецидивом ФСГС в трансплантате независимо от срока развития заболевания [11]. Этот белок отсутствует в моче у здоровых людей и большинства пациентов с клубочковой протеинурией [12, 13]. Его наиболее интенсивная экспрессия у больных с ФСГС с возвратом в трансплантате выявлена в щеточной каемке тубулярных клеток [14].

Мы установили увеличение концентрации в моче ферментов *параоксоназы* и *арилэстеразы 1*, препятствующих окислению ЛПВП. Было показано, что концентрация параоксоназы снижается в сыворотке крови у детей и взрослых с нефротическим синдромом за счет потери с мочой [15, 16]. Однако их значение при ФСГС требует уточнения.

Среди протеомных биомаркеров ФСГС в моче

мы установили повышение уровня *гемопексина*, который представляет собой гликопротеин, обладающий самым высоким сродством к гемму [17]. Гемопексин в настоящее время рассматривается как один из возможных циркулирующих сывороточных факторов идиопатического ФСГС. Гемопексин связывает свободный метгемоглобин, далее распознается CD91 на гепатоцитах или макрофагах в селезенке, печени и костном мозге [18]. На культуре клеток показано, что гемопексин может индуцировать перераспределение актинового цитоскелета в подоцитах и развитие протеинурии [17–19].

Повышение экскреции с мочой у больных с ФСГС *витронектина* также представляет интерес, так как витронектин активирует интегрины, посредством которых подоциты фиксируются на ГБМ. В случаях ФСГС потеря витронектина может отражать процесс отслоения подоцитов от ГБМ [20].

Фактор роста пигментного эпителия (PEDF) в эксперименте способствует перераспределению актина, разрушает цитоскелет и способствует апоптозу подоцитов с развитием протеинурии независимо от причины нефропатии [21], хотя есть и противоположные данные о том, что PEDF может выполнять защитную функцию в подоцитах [22]. Его появление в моче также свидетельствует об активном процессе подоцитарного повреждения, но его роль как патогенетического фактора ФСГС требует дальнейшего уточнения.

Процессы активации комплемента недостаточно хорошо изучены при ФСГС в отличие от других морфологических форм ХГН, однако, мы обнаружили значимое повышение экскреции с мочой компонентов комплемента *C3*, *C4b*, а также *факторов В* и *Н*. Наши данные согласуются с результатами исследования J. Huang и соавт., которые показали возможность системной активации комплемента у больных с ФСГС с повышением уровня *C3a*, *C5a* и *C5b-9* в плазме крови и моче [23]. Согласно другим исследованиям, активация альтернативного пути комплемента при ФСГС была ассоциирована с плохим прогнозом [24–26].

Не менее важным компонентом прогрессирования заболевания и отсутствия ответа на терапию являются тубулоинтерстициальное воспаление и повреждение тубулярного эпителия при ФСГС. Мы полагаем, что эти процессы отражают повышение *ретинол-* и *витамин-D-связывающих белков* в моче. Ретинол-связывающий белок свободно фильтруется через ГБМ и реабсорбируется в канальцах. Наряду с липокалином, ассоциированным с нейтрофильной желатиназой, молекулой повреждения почек 1, N-ацетил-бета-D-глюкозаминидазой ретинол-связывающий белок свидетельствует о

тяжести тубулоинтерстициального повреждения при ФСГС [27]. Пациенты с очень высоким уровнем этого белка в моче чаще всего хуже отвечают на иммуносупрессивную терапию [28]. К показателям тубулоинтерстициального воспаления и фиброза можно отнести и витамин-D-связывающий белок [29–31].

Одновременно с процессами интерстициального воспаления активируются механизмы накопления компонентов экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ). Об интенсивности этих процессов свидетельствует выделение с мочой у больных с ФСГС фибриногена, альфа-2-HS-гликопротеина (фетуина А), богатого гистидином гликопротеина, плазменного протеазного ингибитора С1 [32–38]. С другой стороны, *гиалуронан-связывающий белок 2* и *тяжелые цепи H1 и H2 ингибитора интер-альфа-трипсина* участвуют в активации париетальных эпителиальных клеток – основных профиброгенных клеток в клубочках и служат мощным стимулом для процессов гломерулосклероза [39–41].

При мембранозной нефропатии, выбранной в качестве группы сравнения, была выявлена повышенная экскреция с мочой С2-компонента комплемента, альфа-цепи фибриногена, остеопонтинина и SH3-связывающего домена протеина 3, богатого глутаминовой кислотой. Так, в ряде опубликованных исследований было показано увеличение экспрессии остеопонтинина в клетках канальцевого эпителия почечной ткани у пациентов с мембранозной нефропатией, отражая интерстициальное воспаление [42, 43]. В работе С. Wu и соавт. в модели мембранозной нефропатии на мышьях было выявлено повышение экспрессии 149 генов в ткани почки, среди них был ген SH3-связывающего домена протеина 3, богатого глутаминовой кислотой [44]. Роль остальных белков, выявленных нами при МН, требует дальнейшего исследования на большей выборке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, протеомный профиль мочи у больных с ФСГС отражает активацию одновременно нескольких патологических процессов – повреждения подоцита, активацию париетальных эпителиальных клеток, запускающих гломерулосклероз, активного интерстициального воспаления, тубулярного повреждения и накопление экстрацеллюлярного матрикса. Согласно профилю экскретируемых белков, при подоцитопатиях не менее важную роль играет активация комплемента по альтернативному и классическому пути. Часть белкового спектра можно отнести к защитным механизмам, направленным на уменьшение инфильтрации интерстиция и повреждения клеток клубочка.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ
REFERENCE

1. Praga M, Morales E, Herrero JC et al. Absence of hypoalbuminemia despite massive proteinuria in focal segmental glomerulosclerosis secondary to hyperfiltration. *Am J Kidney Dis* 1999;33(1):52–58. doi: 10.1016/s0272-6386(99)70257-x
2. Rydel JJ, Korbet SM, Borok RZ, Schwartz MM. Focal segmental glomerular sclerosis in adults: presentation, course, and response to treatment. *Am J Kidney Dis* 1995;25(4):534–542. doi: 10.1016/0272-6386(95)90120-5
3. Korbet SM, Schwartz MM, Lewis EJ. Primary focal segmental glomerulosclerosis: clinical course and response to therapy. *Am J Kidney Dis* 1994;23(6):773–783. doi: 10.1016/s0272-6386(12)80128-4
4. Wehrmann M, Bohle A, Held H et al. Long-term prognosis of focal sclerosing glomerulonephritis. An analysis of 250 cases with particular regard to tubulointerstitial changes. *Clin Nephrol* 1990;33(3):115–122
5. Cunningham R, Ma D, Li L. Mass Spectrometry-based Proteomics and Peptidomics for Systems Biology and Biomarker Discovery. *Front Biol (Beijing)* 2012;7(4):313–335. doi: 10.1007/s11515-012-1218-y
6. Di Meo A, Pasic MD, Yousef GM. Proteomics and peptidomics: moving toward precision medicine in urological malignancies. *Oncotarget* 2016;7(32):52460–52474. doi: 10.18632/oncotarget.8931
7. Feist P, Hummon AB. Proteomic challenges: sample preparation techniques for microgram-quantity protein analysis from biological samples. *Int J Mol Sci* 2015;16(2):3537–3563. doi: 10.3390/ijms16023537
8. Filip S, Pontillo C, Peter Schanstra J et al. Urinary proteomics and molecular determinants of chronic kidney disease: possible link to proteases. *Expert Rev Proteomics* 2014;11(5):535–548. doi: 10.1586/14789450.2014.926224
9. Mischak H, Delles C, Vlahou A, Vanholder R. Proteomic biomarkers in kidney disease: issues in development and implementation. *Nat Rev Nephrol* 2015;11(4):221–232. doi: 10.1038/nrneph.2014.247
10. Decramer S, Gonzalez de Peredo A, Breuil B et al. Urine in clinical proteomics. *Mol Cell Proteomics* 2008;7(10):1850–1862. doi: 10.1074/mcp.R800001-MCP200
11. Puig-Gay N, Jacobs-Cacha C, Sellarés J et al. Apolipoprotein A-Ib as a biomarker of focal segmental glomerulosclerosis recurrence after kidney transplantation: diagnostic performance and assessment of its prognostic value – a multi-centre cohort study. *Transpl Int* 2019;32(3):313–322. doi: 10.1111/tri.13372
12. Gomo ZA, Henderson LO, Myrick JE. High-density lipoprotein apolipoproteins in urine: I. Characterization in normal subjects and in patients with proteinuria. *Clin Chem* 1988;34(9):1775–1780
13. Jacobs-Cachá C, Puig-Gay N, Helm D et al. Amisprocessed form of Apolipoprotein A-I is specifically associated with recurrent Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Sci Rep* 2020;10(1):1159. doi: 10.1038/s41598-020-58197-y
14. Jacobs-Cachá C, Puig-Gay N, Vergara A et al. A Specific Tubular ApoA-I Distribution Is Associated to FSGS Recurrence after Kidney Transplantation. *J Clin Med* 2021;10(10):2174. doi: 10.3390/jcm10102174
15. Hashemi M, Sadeghi-Bojd S, Raeisi M, Moazeni-Roodi A. Evaluation of paraoxonase activity in children with nephrotic syndrome. *Nephrourol Mon* 2013;5(5):978–982. doi: 10.5812/numonthly.12606
16. Soyoral YU, Aslan M, Emre H et al. Serum paraoxonase activity and oxidative stress in patients with adult nephrotic syndrome. *Atherosclerosis* 2011;218(1):243–246. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.05.037
17. Lennon R, Singh A, Welsh GI et al. Hemopexin induces nephrin-dependent reorganization of the actin cytoskeleton in podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(11):2140–2149. doi: 10.1681/ASN.2007080940
18. Pukajło-Marczyk A, Zwolińska D. Involvement of Hemopexin in the Pathogenesis of Proteinuria in Children with Idiopathic Nephrotic Syndrome. *J Clin Med* 2021;10(14):3160. doi: 10.3390/jcm10143160
19. Kapojos JJ, Poelstra K, Borghuis T et al. Regulation of plasma hemopexin activity by stimulated endothelial or mesangial cells. *Nephron Physiol* 2004;96(1):P1–10. doi: 10.1159/000075574
20. Shen J, Zhu Y, Zhang S et al. Vitronectin-activated $\alpha v \beta 3$ and $\alpha v \beta 5$ integrin signalling specifies haematopoietic fate in human pluripotent stem cells. *Cell Prolif* 2021;54(4):e13012. doi: 10.1111/cpr.13012
21. Huang N, Zhang X, Jiang Y et al. Increased levels of serum pigment epithelium-derived factor aggravate proteinuria via induction of podocyte actin rearrangement. *Int Urol Nephrol* 2019;51(2):359–367. doi: 10.1007/s11255-018-2026-3
22. Fujimura T, Yamagishi S, Ueda S et al. Administration of pigment epithelium-derived factor (PEDF) reduces proteinuria by suppressing decreased nephrin and increased VEGF expression in the glomeruli of adriamycin-injected rats. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24(5):1397–1406. doi: 10.1093/ndt/gfn659
23. Huang J, Cui Z, Gu QH et al. Complement activation profile of patients with primary focal segmental glomerulosclerosis. *PLoS One* 2020;15(6):e0234934. doi: 10.1371/journal.pone.0234934
24. Liu J, Xie J, Zhang X et al. Serum C3 and Renal Outcome in Patients with Primary Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Sci Rep* 2017;7(1):4095. doi: 10.1038/s41598-017-03344-1
25. Thurman JM, Wong M, Renner B et al. Complement Activation in Patients with Focal Segmental Glomerulosclerosis. *PLoS One* 2015;10(9):e0136558. doi: 10.1371/journal.pone.0136558
26. Zoshima T, Hara S, Yamagishi M et al. Possible role of complement factor H in podocytes in clearing glomerular subendothelial immune complex deposits. *Sci Rep* 2019;9(1):7857. doi: 10.1038/s41598-019-44380-3
27. Zhang Q, Jiang C, Tang T et al. Clinical Significance of Urinary Biomarkers in Patients With Primary Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Am J Med Sci* 2018;355(4):314–321. doi: 10.1016/j.amjms.2017.12.019
28. Mastroianni Kirsztajn G, Nishida SK, Silva MS et al. Urinary retinol-binding protein as a prognostic marker in the treatment of nephrotic syndrome. *Nephron* 2000;86(2):109–114. doi: 10.1159/000045727
29. Bennett MR, Pordal A, Haffner C et al. Urinary Vitamin D-Binding Protein as a Biomarker of Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Biomark Insights* 2016;11:1–6. doi: 10.4137/BMI.S31633
30. Mirković K, Doorenbos CR, Dam WA et al. Urinary vitamin D binding protein: a potential novel marker of renal interstitial inflammation and fibrosis. *PLoS One* 2013;8(2):e55887. doi: 10.1371/journal.pone.0055887
31. Choudhary A, Mohanraj PS, Krishnamurthy S, Rajappa M. Association of Urinary Vitamin D Binding Protein and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin with Steroid Responsiveness in Idiopathic Nephrotic Syndrome of Childhood. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2020;31(5):946–956. doi: 10.4103/1319-2442.301201
32. Bukosza EN, Kornauth C, Hummel K et al. ECM Characterization Reveals a Massive Activation of Acute Phase Response during FSGS. *Int J Mol Sci* 2020;21(6):2095. doi: 10.3390/ijms21062095
33. Medjeral-Thomas NR, Troldborg A et al. Protease inhibitor plasma concentrations associate with COVID-19 infection. *Oxf Open Immunol* 2021;2(1):iqab014. doi: 10.1093/oxfimm/iqab014
34. Priebsch KM, Kvensakul M, Poon IK, Hulett MD. Functional Regulation of the Plasma Protein Histidine-Rich Glycoprotein by Zn²⁺ in Settings of Tissue Injury. *Biomolecules* 2017;7(1):22. doi: 10.3390/biom7010022
35. Siwy J, Zürgbil P, Argiles A et al. Noninvasive diagnosis of chronic kidney diseases using urinary proteome analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2017;32(12):2079–2089. doi: 10.1093/ndt/gfw337
36. Zhao M, Li M, Li X et al. Dynamic changes of urinary proteins in a focal segmental glomerulosclerosis rat model. *Proteome Sci* 2014;12:42. doi: 10.1186/1477-5956-12-42
37. Catanese L, Siwy J, Mavrogeorgis E et al. A Novel Urinary Proteomics Classifier for Non-Invasive Evaluation of Interstitial Fibrosis and Tubular Atrophy in Chronic Kidney Disease. *Proteomes* 2021;9(3):32. doi: 10.3390/proteomes9030032
38. Fischer DC, Schaible J, Wigger M et al. Reduced serum fetuin-A in nephrotic children: a consequence of proteinuria? *Am J Nephrol* 2011;34(4):373–380. doi: 10.1159/000331061
39. Mambetsariev N, Mirzapoziova T, Mambetsariev B et al. Hyaluronic Acid binding protein 2 is a novel regulator of vascular integrity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30(3):483–490. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.200451
40. Kaul A, Singampalli KL, Parikh UM et al. Hyaluronan, a double-edged sword in kidney diseases. *Pediatr Nephrol* 2021.

Epub ahead of print. doi: 10.1007/s00467-021-05113-9

41. Merchant ML, Barati MT, Caster DJ et al. Proteomic Analysis Identifies Distinct Glomerular Extracellular Matrix in Collapsing Focal Segmental Glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2020;31(8):1883–1904. doi: 10.1681/ASN.2019070696

42. Mezzano SA, Droguett MA, Burgos ME et al. Overexpression of chemokines, fibrogenic cytokines, and myofibroblasts in human membranous nephropathy. *Kidney Int* 2000;57(1):147–158. doi: 10.1046/j.1523-1755.2000.00830.x

43. Mezzano SA, Barria M, Droguett MA et al. Tubular NF-kappaB and AP-1 activation in human proteinuric renal disease. *Kidney Int* 2001;60(4):1366–1377. doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.00941.x

44. Wu CC, Chen JS, Huang CF et al. Approaching biomarkers of membranous nephropathy from a murine model to human disease. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:581928. doi: 10.1155/2011/581928

Сведения об авторах:

Аспирант Виноградов Анатолий Александрович
119991, Россия, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 27, корп. 1. Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, кафедра внутренних болезней. Тел.: (985)1179371; E-mail: anatoliy_vinogradov@list.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7529-0215>

Проф. Чеботарева Наталья Викторовна, д-р мед. наук
119048, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8. Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Клиника ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева. Тел.: (905)5434250, E-mail: natasha_tcheb@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2128-8560>

Старший научный сотрудник Бугрова Анна Евгеньевна, канд. биол. наук
119334, Россия, Москва, ул. Косыгина, д. 4. Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, лаборатория нейробиологии. Тел.: (926)5626590; E-mail: anna.bugrova@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4568-7507>

Научный сотрудник Бржозовский Александр Геннадьевич, канд. биол. наук
121205, Россия, Москва, Большой бульвар, д. 30, стр. 1. Сколковский институт науки и технологий, Центр наук о жизни, лаборатория масс-спектрометрии и омиксных технологий. Тел.: (916)7705168; E-mail: agb.imbp@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1128-1795>

Доц. Краснова Татьяна Николаевна, канд. мед. наук
119991, Россия, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 27, корп. 1. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, кафедра внутренних болезней. Тел.: (985)2952711; E-mail: krasnovamgu@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6175-1076>

Проф. Моисеев Сергей Валентинович, д-р мед. наук
119048, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8. Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедра внутренних, профессиональных болезней и ревматологии. Тел.: (916)6864166, E-mail: avt420034@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7232-4640>

Кононихин Алексей Сергеевич, канд. физ.-мат. наук
121205, Россия, Москва, Большой бульвар, д. 30, стр. 1. Сколковский институт науки и технологий, Центр наук о жизни, ла-

боратория масс-спектрометрии и омиксных технологий. Тел.: (916)7854781; E-mail: a.kononikhin@skoltech.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2238-3458>

About the authors:

Postgraduate student Vinogradov Anatoly Aleksandrovich, MD
119991, Russia, Moscow, Lomonosovsky pr-t., 27, bldg. 1. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Fundamental Medicine, Department of Internal Medicine. Phone: (985)1179371; E-mail: anatoliy_vinogradov@list.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7529-0215>

Prof. Chebotareva Natalya Viktorovna, MD, PhD, DMedSci
119048 Russia, Moscow, 8 Trubeckaya st., Sechenov First Moscow State Medical University, Department of Internal, Occupational diseases and Rheumatology. Phone: (905)5434250; E-mail: natasha_tcheb@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2128-8560>

Senior staff scientist Bugrova Anna E., PhD
119334, Russia, Moscow, 4 Kosygina st., Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Laboratory of neurochemistry. Phone: (926)5626590; E-mail: anna.bugrova@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4568-7507>

Staff scientist Alexander G. Brzhozovskiy, PhD
121205, Russia, Moscow, Bolshoy Boulevard, 30, p.1. Skolkovo Institute of Science and Technology, Center of Life Sciences, Laboratory of Mass Spectrometry and Omics Technologies. Phone: (916)7705168; E-mail: a.brzhozovskiy@skoltech.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1128-1795>

Associate Professor Tatyana N. Krasnova, MD, PhD
119991, Russia, Moscow, 27 Lomonosovsky Ave., build. 1. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine. Phone: (985)2952711; E-mail: krasnovamgu@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6175-1076>

Prof. Moiseev Sergey Valentinovich, MD, PhD, DMedSci
119048 Russia, Moscow, 8 Trubeckaya st., Sechenov First Moscow State Medical University, Department of Internal, Occupational diseases and Rheumatology. Phone: (916)6864166, E-mail: avt420034@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7232-4640>

Senior staff scientist Alexey S. Kononikhin, PhD
121205, Russia, Moscow, Bolshoy Boulevard, 30, p.1. Skolkovo Institute of Science and Technology, Center of Life Sciences, Laboratory of Mass Spectrometry and Omics Technologies. Phone: (916)7854781; E-mail: a.kononikhin@skoltech.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2238-3458>

Вклад авторов: все авторы сделали одинаковый вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Данное исследование поддержано грантом Российского научного фонда №21-74-20173.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

Статья поступила в редакцию 12.03.2022;
одобрена после рецензирования 01.07.2023;
принята к публикации 27.01.2023
The article was submitted 12.03.2022;
approved after reviewing 01.07.2023;
accepted for publication 27.01.2023