

Proteinurie – diagnostika, patofyziologie a význam v medicíně



Vladimír Tesař

Klinika nefrologie 1.LF UK a VFN, Praha

Proteinurie

Diagnostika

Patofyziologie

Význam v medicíně

Klasifikace proteinurie

Glomerulární

- vždy dominuje albuminurie
- malá, střední, velká

Tubulární

- mikroproteiny

Prerenální

- lehké řetězce Ig

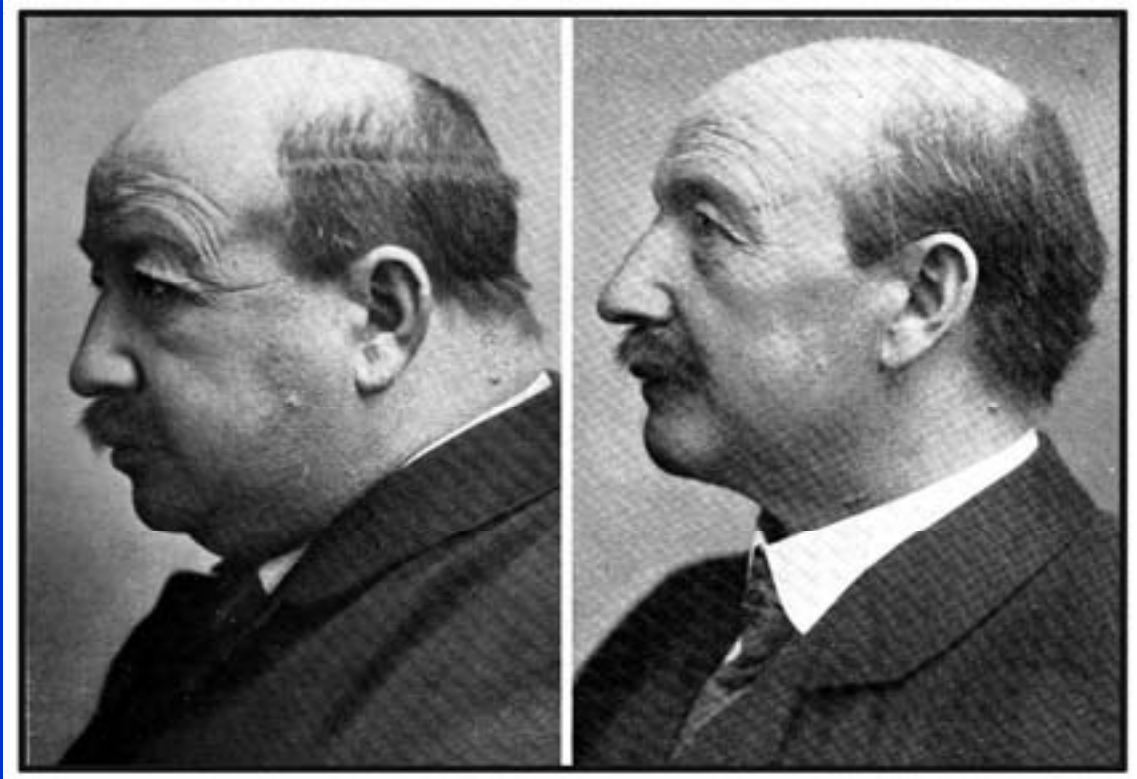
Nefrotický syndrom

Velká proteinurie

Hypoproteinémie (hypalbuminémie)

Hypercholesterolémie (↑ TG)

Otoky



Vyšetření proteinurie

Diagnostické proužky

**Kvantitativní proteinurie vs. poměr
proteiny/kreatinin v moči**

Mikroalbuminurie

Močová proteomika

Mikroalbuminurie

	albuminurie		
	mg/den	µg/min	mg/mmol kreat
Normoalb	< 30	< 20	< 3,5
Mikroalb	30 – 300	20 - 200	3,5 - 35
Proteinurie	> 300	> 200	> 35

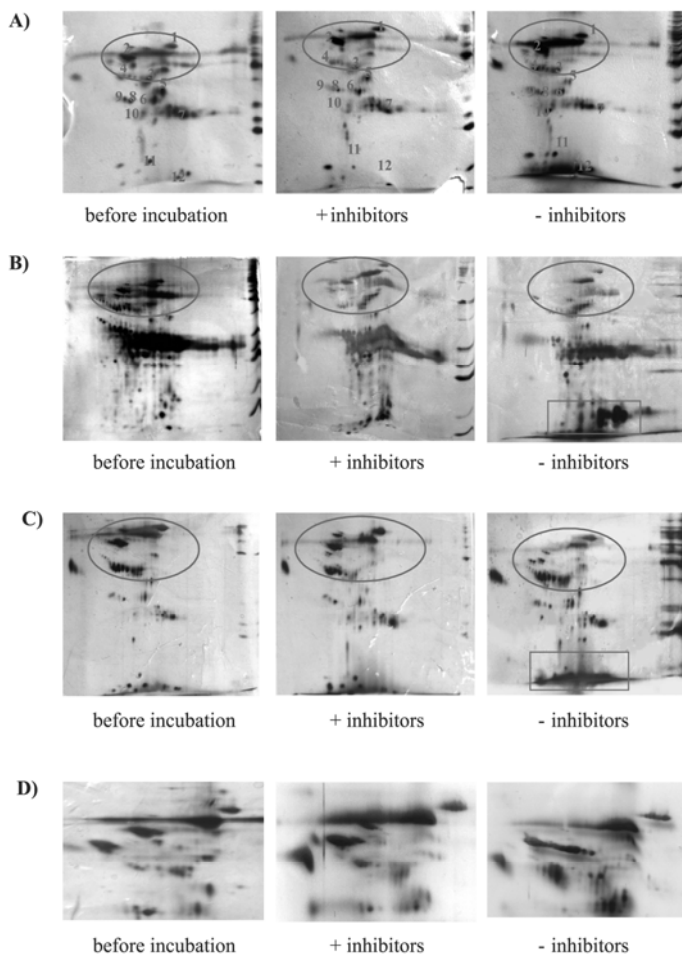
Močová proteomika moč– ideální zdroj informací o změnách struktury a funkce ledvin

- ❑ **snadná opakovaná dostupnost**
- ❑ **relativní stabilita proteinů v moči**

6 hod při pokojové teplotě

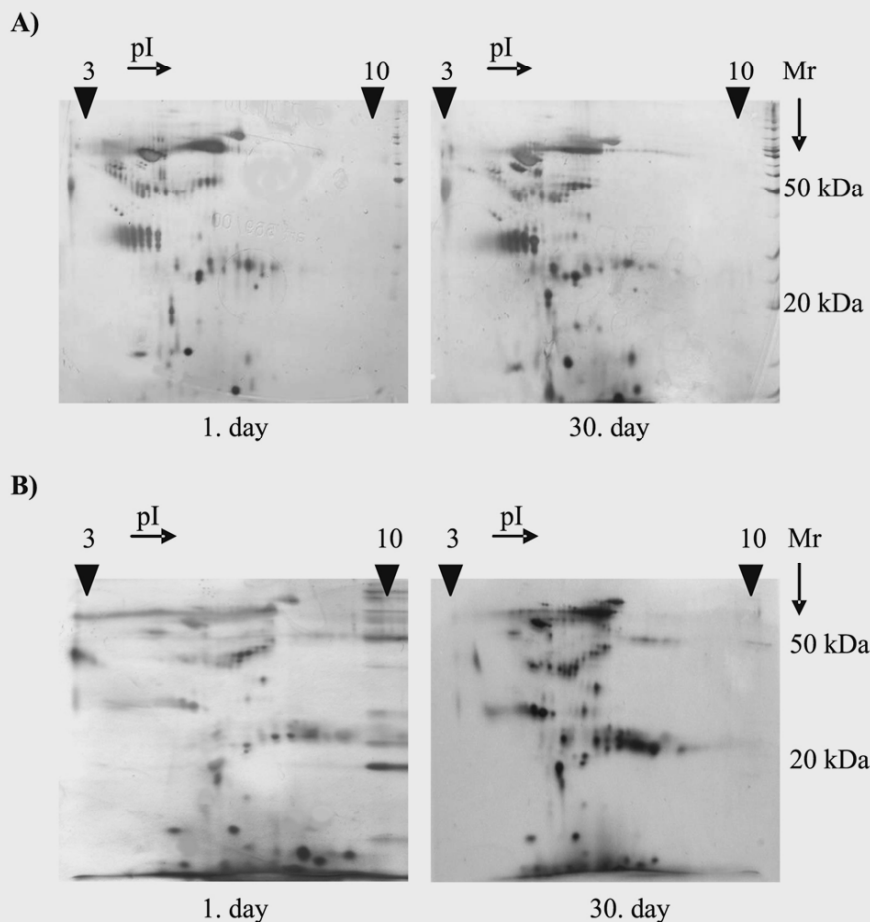
3-4 dny při teplotě 3-4 stupně

několik let při teplotě -20 stupňů



Vliv proteolýzy na proteinovou mapu

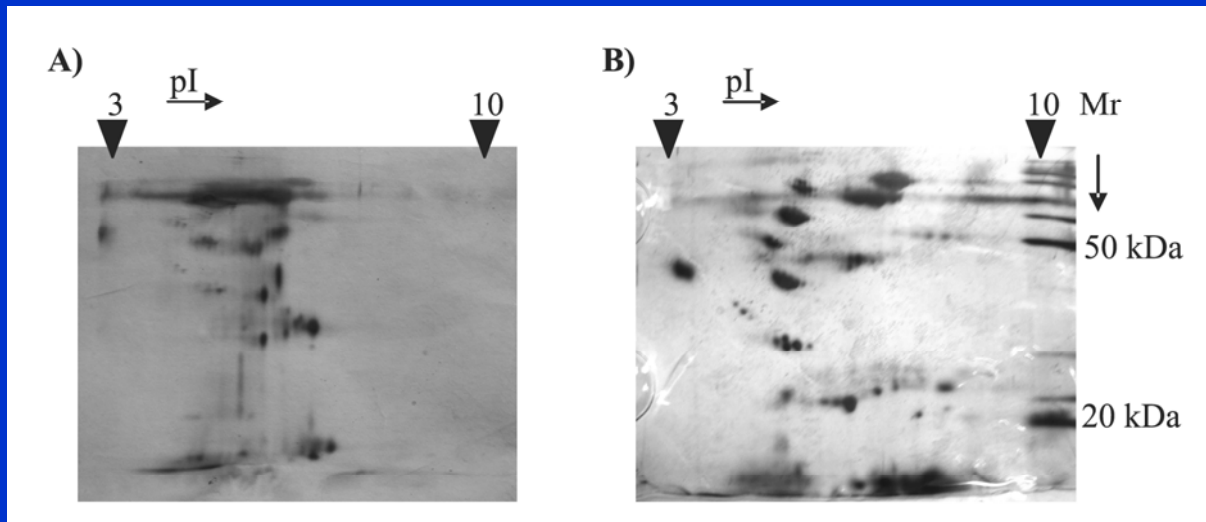
Proteinová mapa pacientů s nefrotickým syndromem (Vojtová et al., Folia Biologica, 2007)



Ověření stability vzorků při uskladnění při teplotě -80°C

(Vojtová et al., Folia Biologica, 2007)

Proteinová mapa před odstraněním a po odstranění albuminu



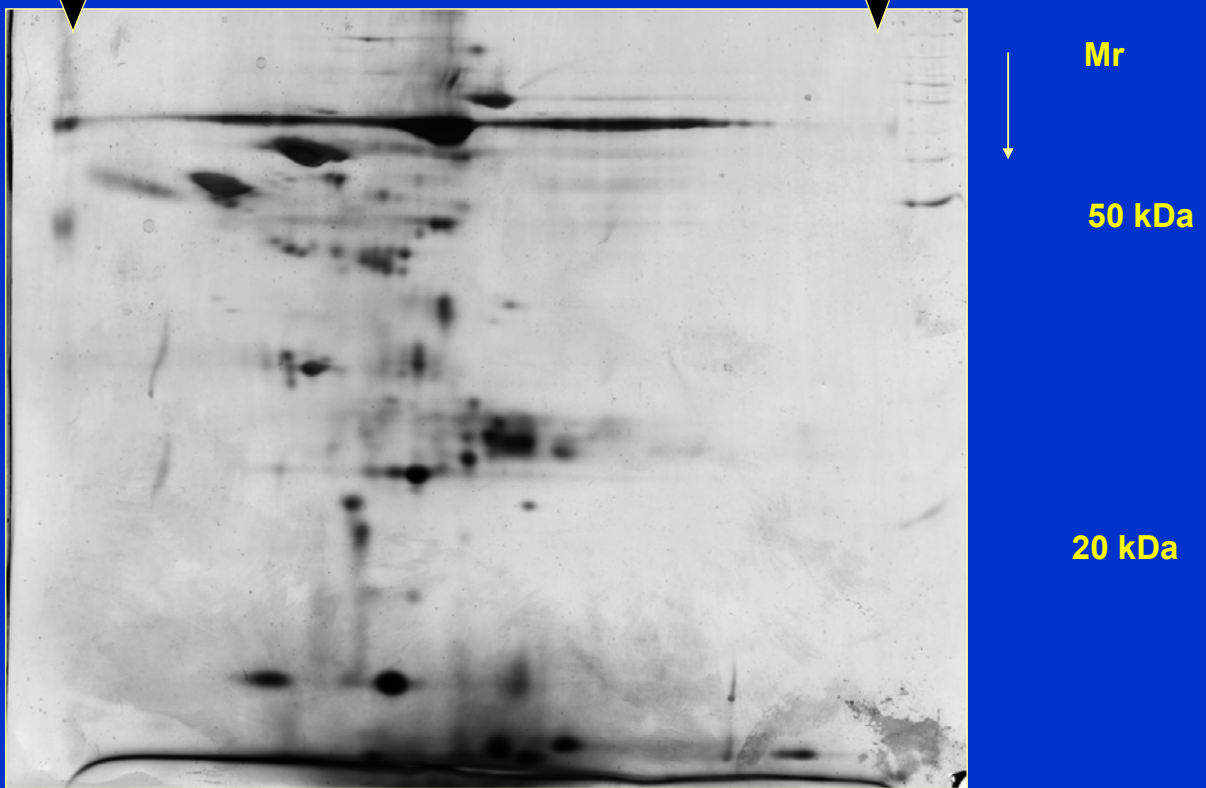
(Vojtová et al., Folia Biologica, 2007)

Normální močový proteom

(Thongboonkerd et al., 2001, 2002, Zhou et al., 2006)

- ❑ v moči identifikováno více než **1500** proteinů a jejich fragmentů, zejména membránové proteiny
- ❑ frakci obsahující membránové proteiny (**exozómy**) lze oddělit rychlou centrifugací
- ❑ **denní variabilita** močového proteomu –
vliv cirkadiálního rytmu, jídla, fyzické aktivity, –
rozdíly v proteomu první ranní moči a středním proudy moči – standardizace nutná

Proteinová mapa u pacienta s nefrotickým syndromem



(Vojtová et al., Folia Biologica, 2007)

Proteinurie

Diagnostika

Patofyziologie

Význam v medicíně

Příčiny nefrotického syndromu

Zvýšená permeabilita glomerulární kapilární stěny pro makromolekuly

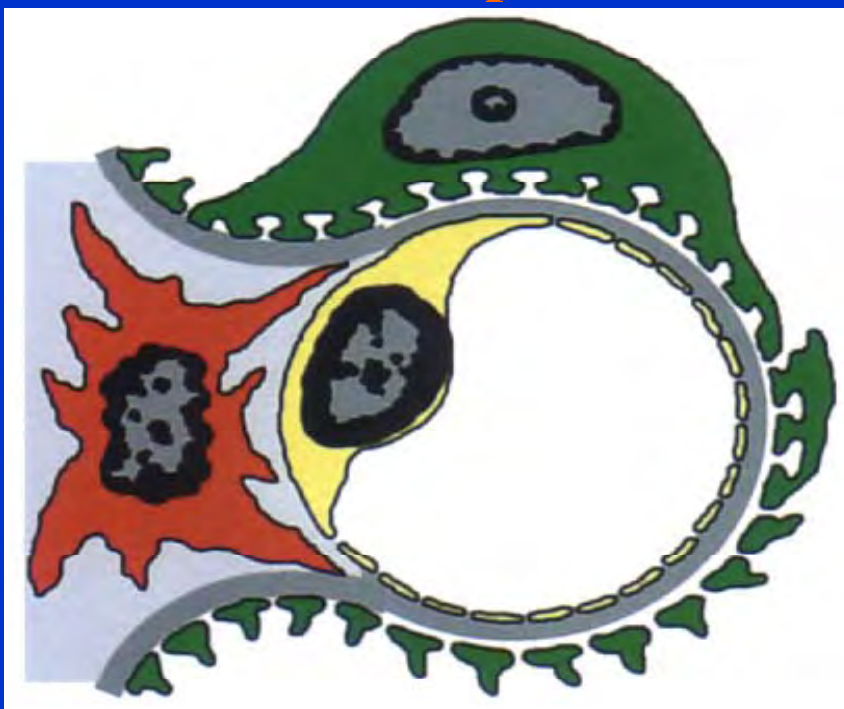
Selektivita podle náboje

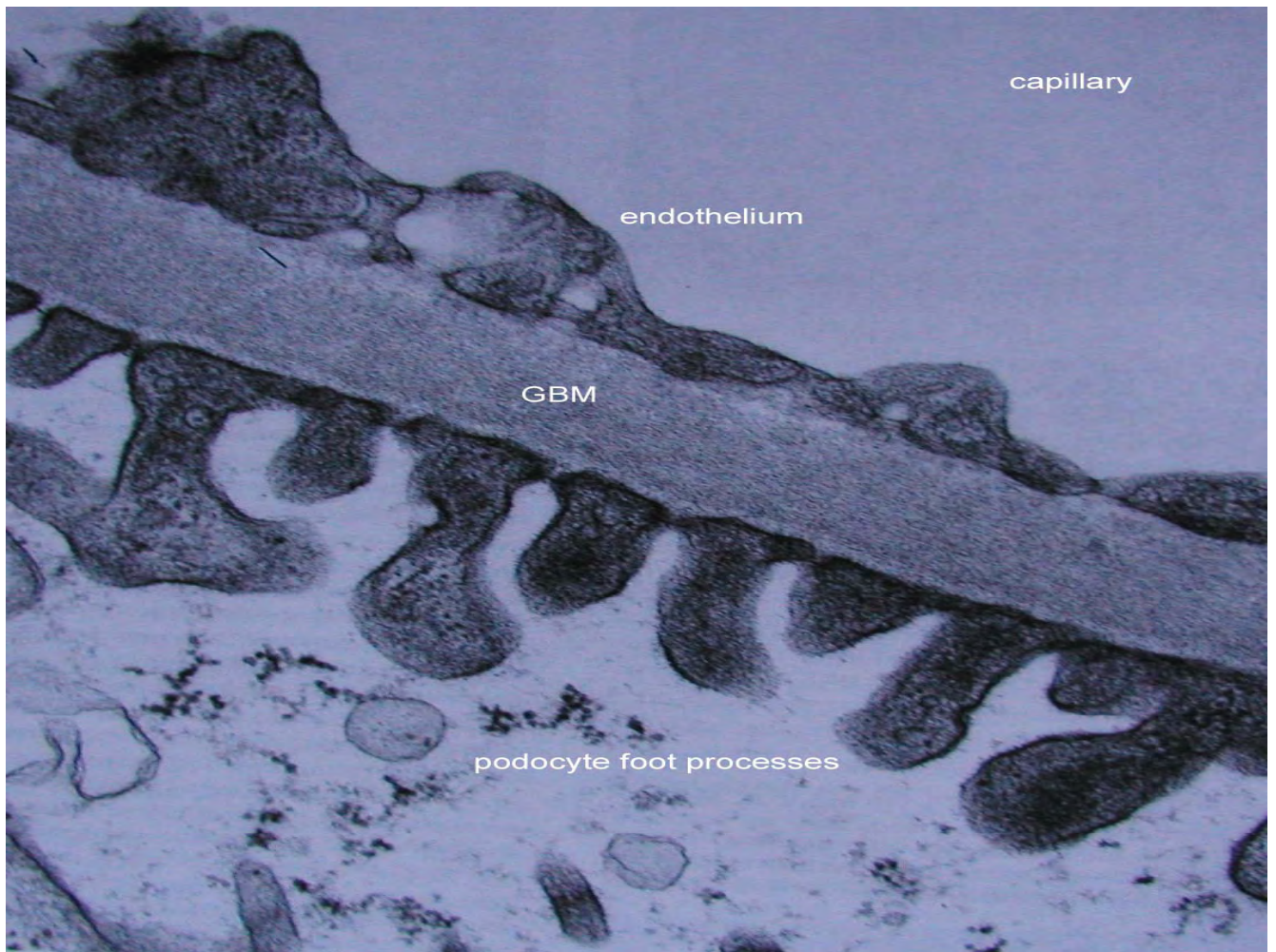
selektivní proteinurie

Selektivita podle velikosti

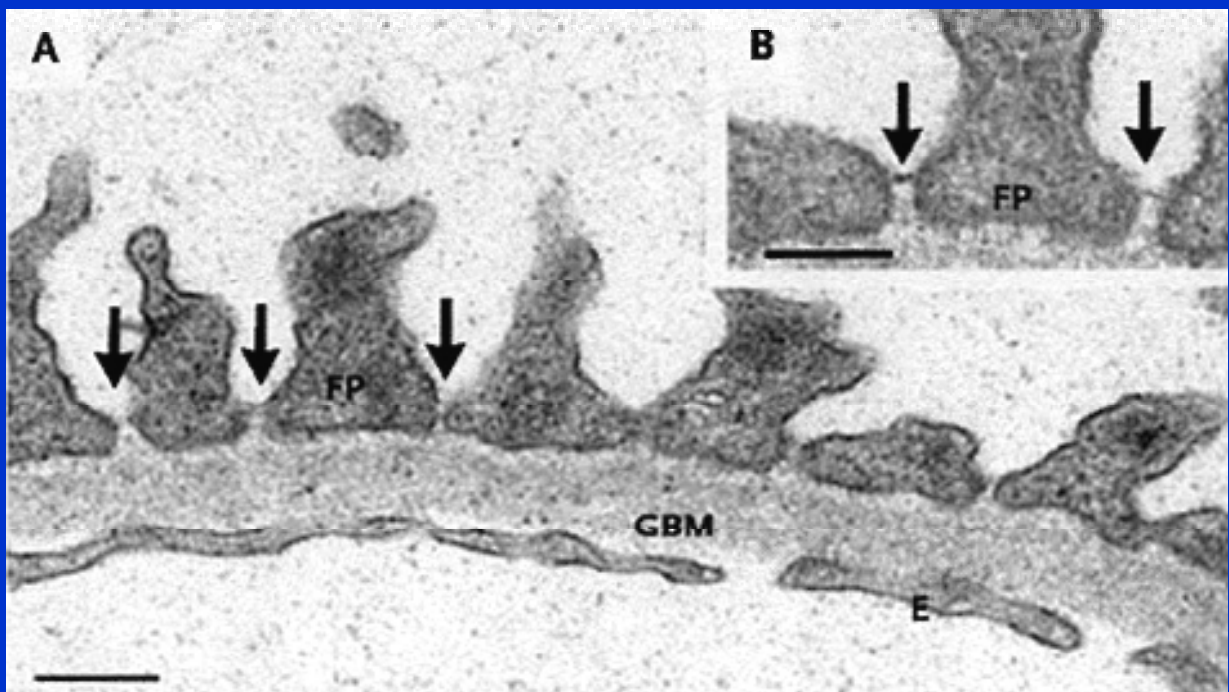
neselektivní proteinurie

Glomerulární kapilární stěna



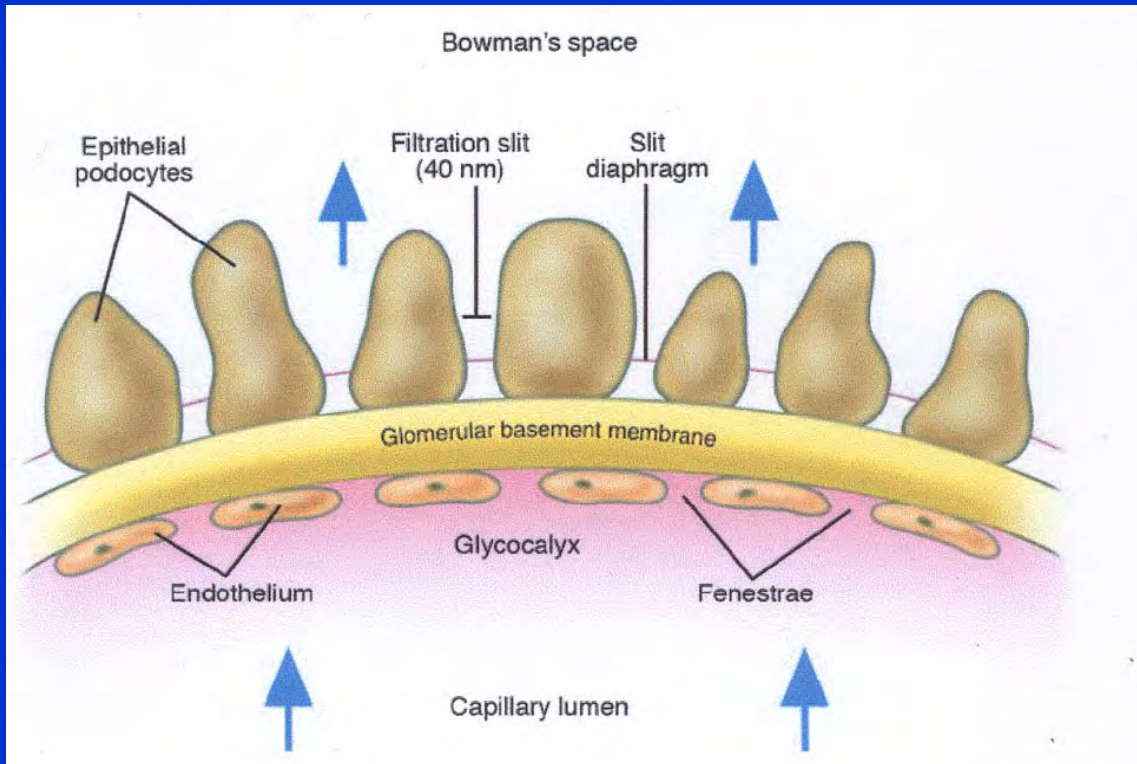


Electronoptický obraz membrány mezi výběžky podocytů

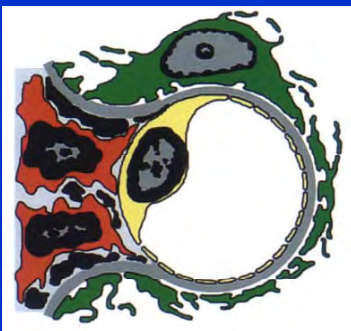
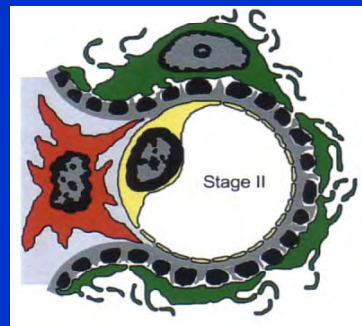
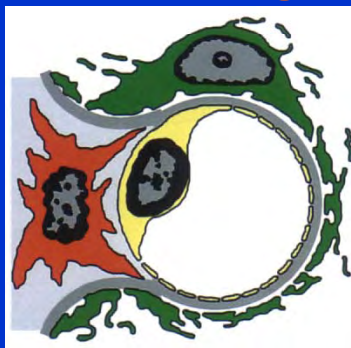
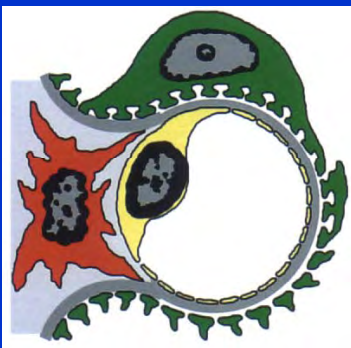


Glomerulární kapilární stěna

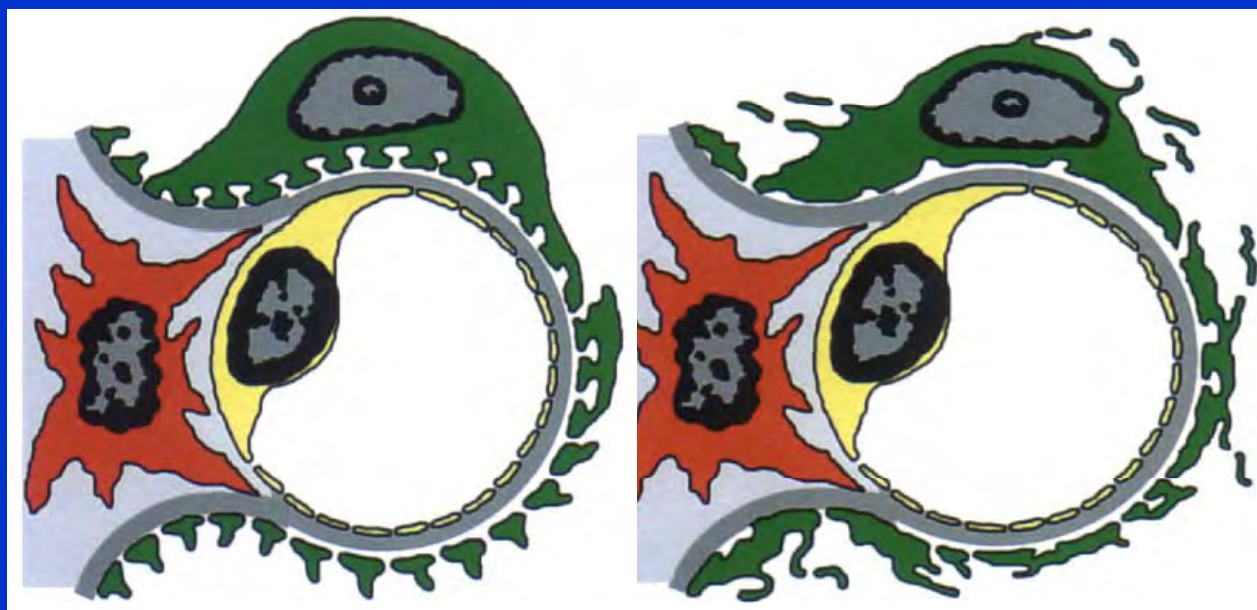
Deen, *J.Clin.Invest.*, 2004, 1412 - 1414



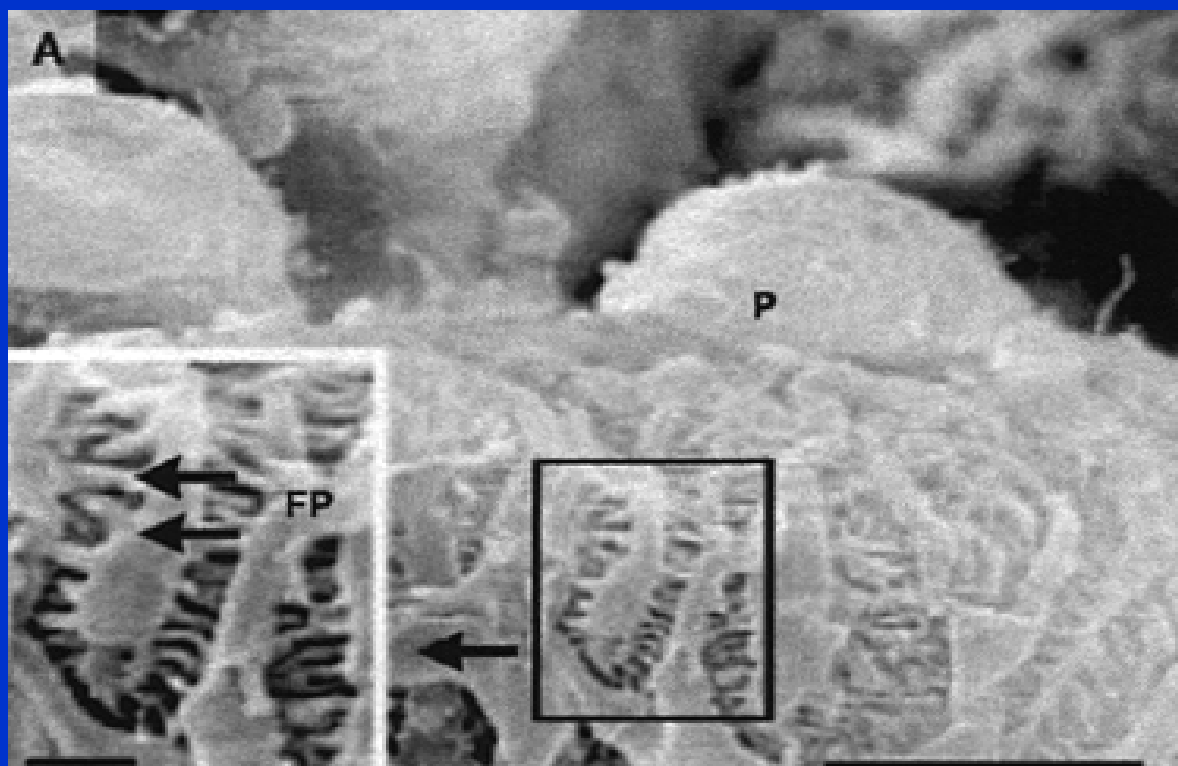
Ultrastrukturální změny glomerulárních kapilár u nemocí glomerulů



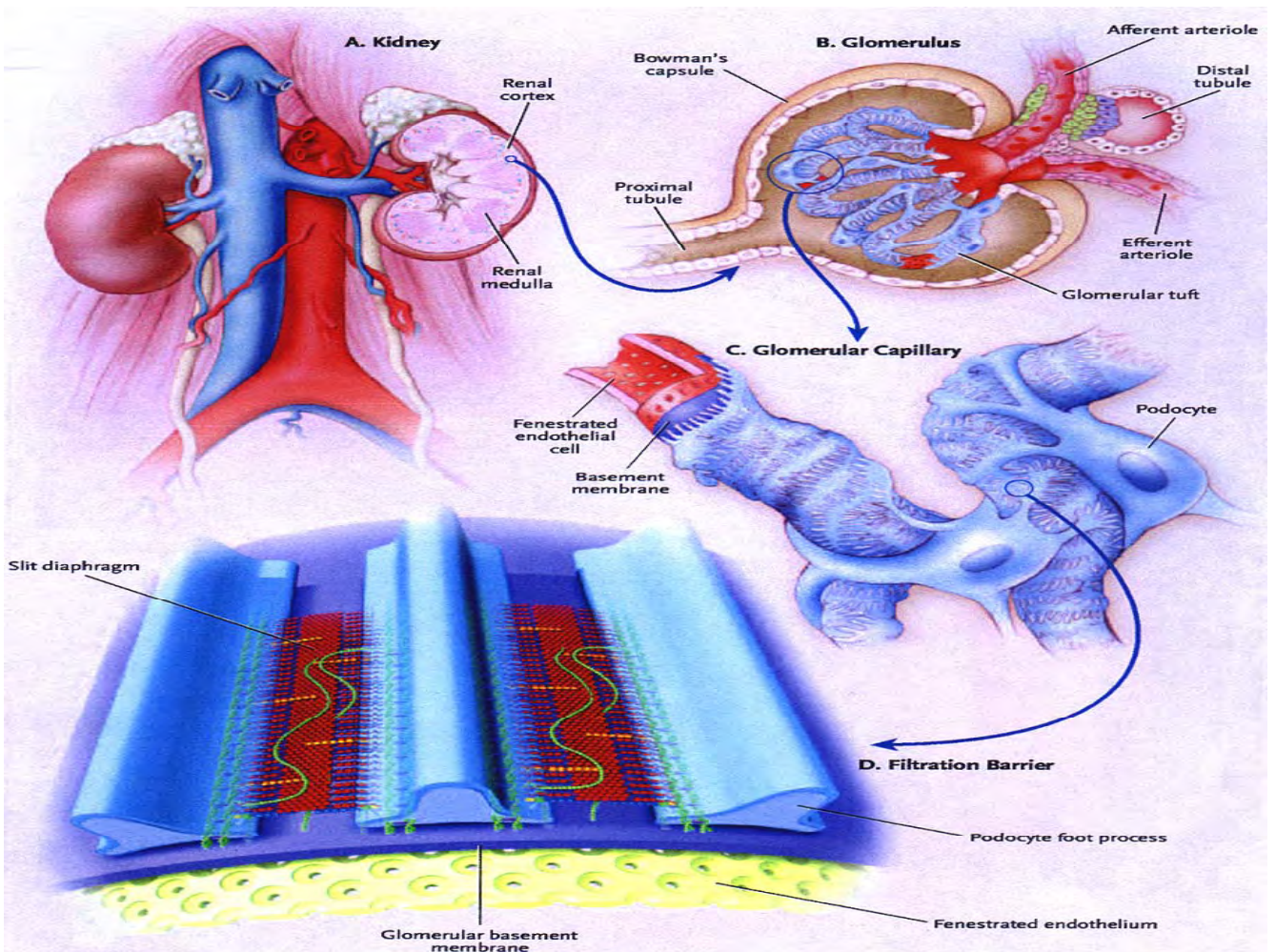
NS s minimálními změnami glomerulů



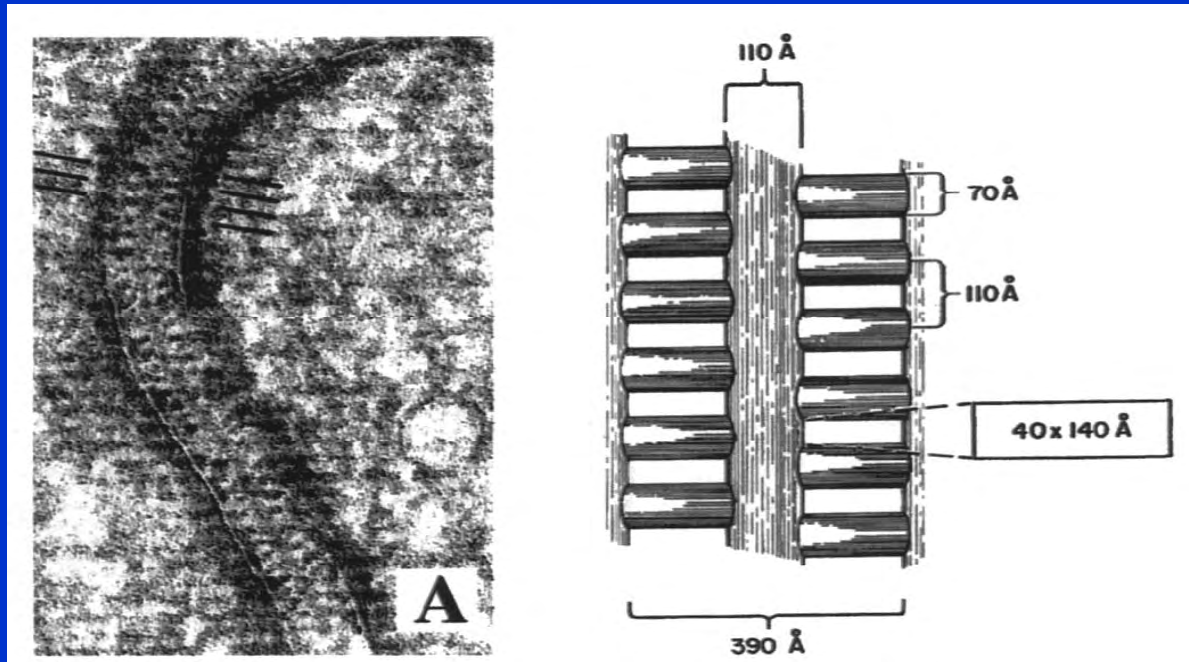
Podocyty u zdravého člověka



Pedicely podocyti

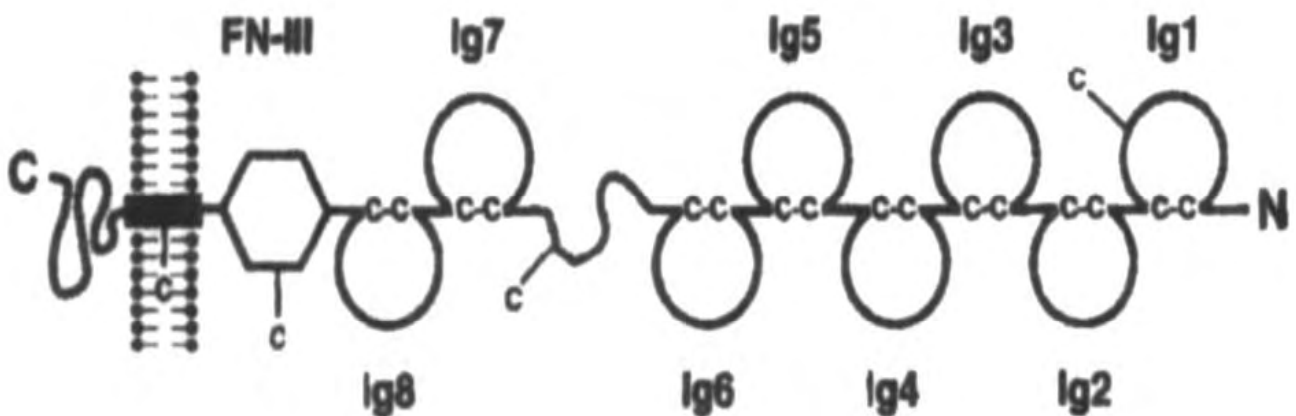


Ultrastrukturální obraz membrány mezi výběžky podocytů



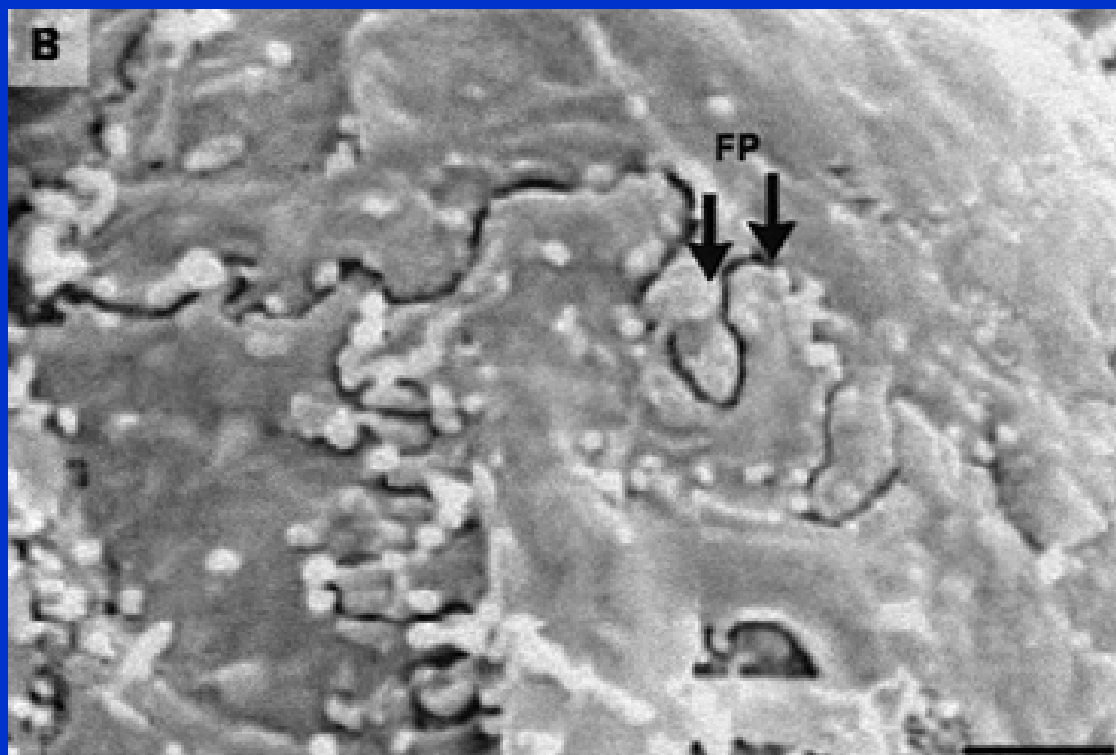
Rodewald and Karnovsky, 1974

Schéma lidského nefrinu



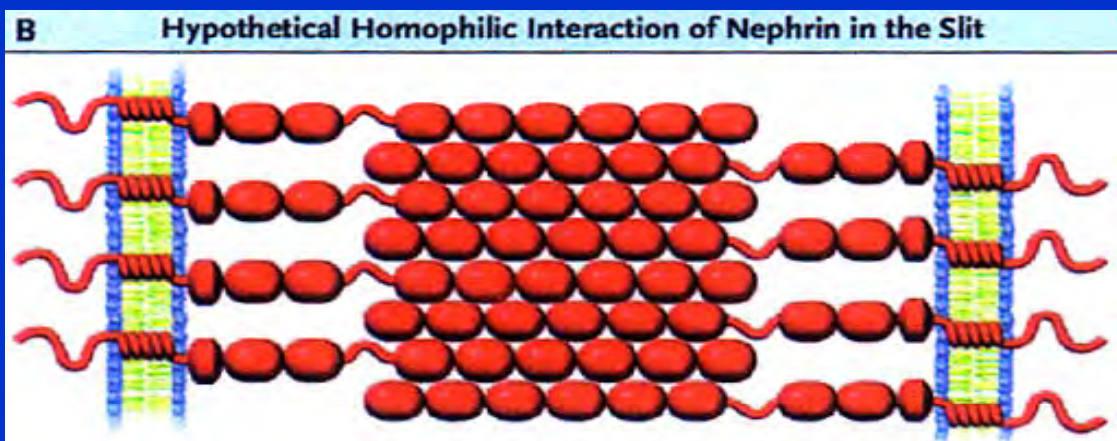
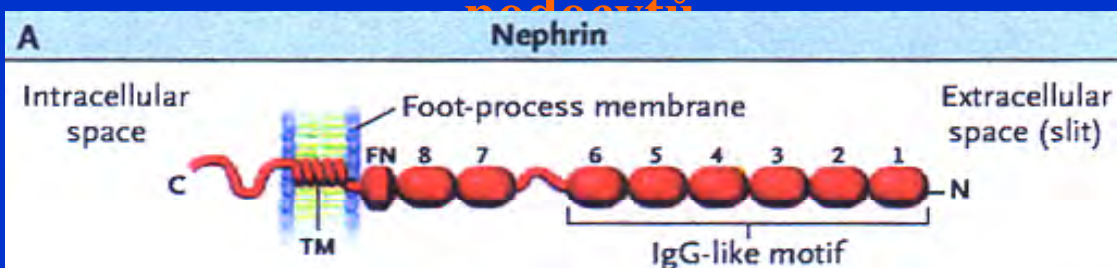
Kestila et al., Mol Cell, 1998

Podocyty u kongenitálního NS

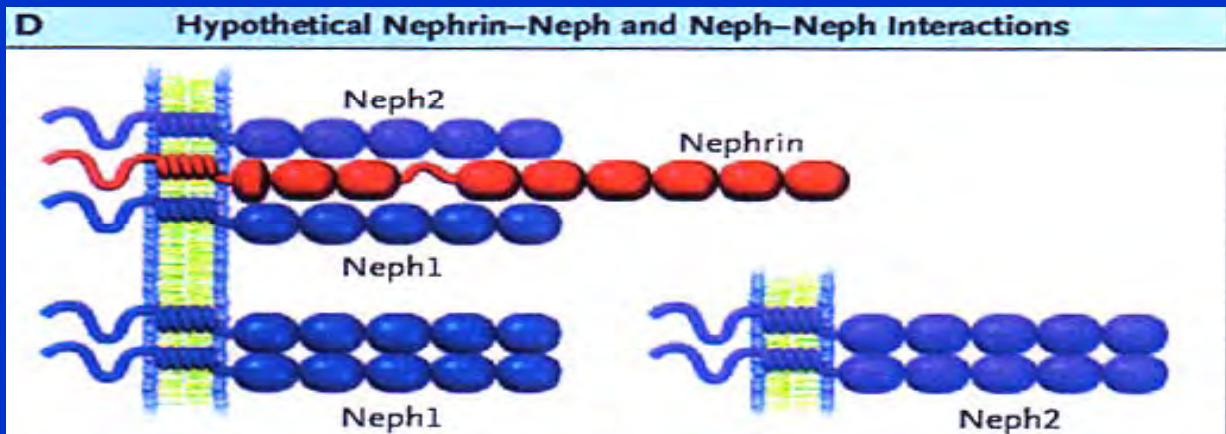
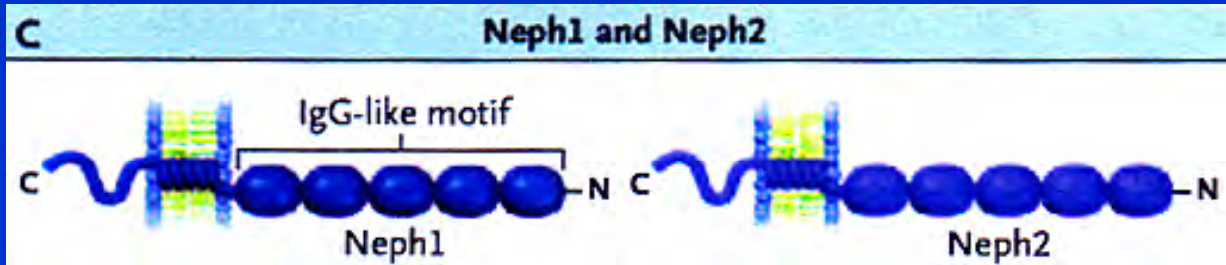


Nephrin a membrána mezi výběžky

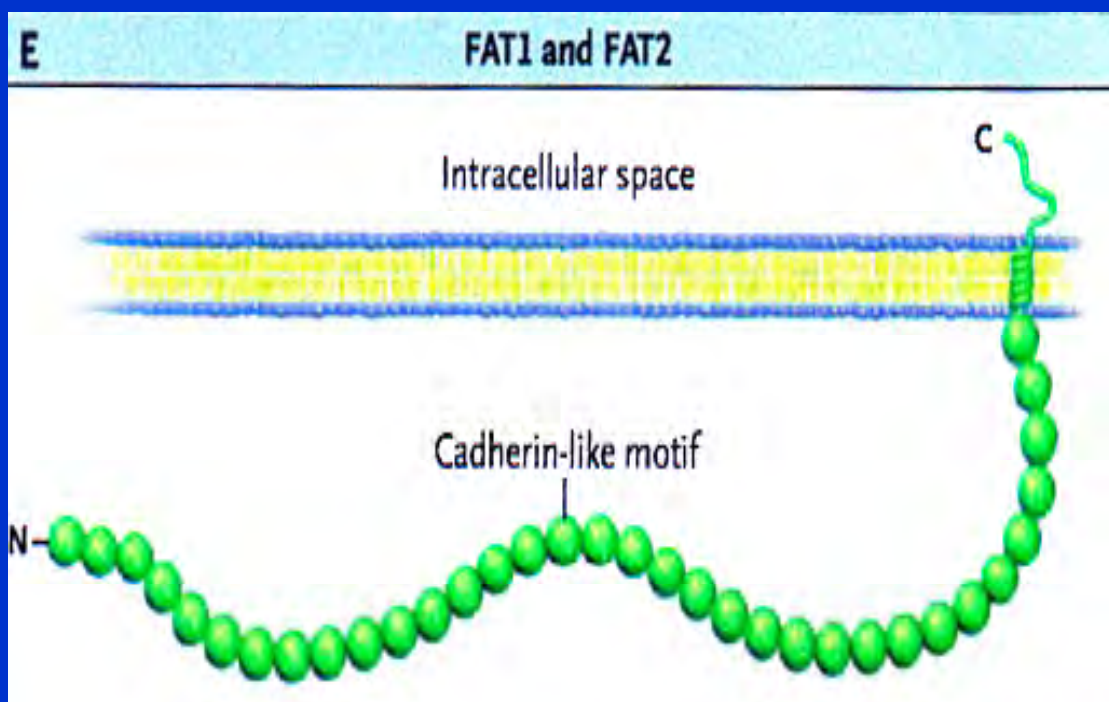
podocytů



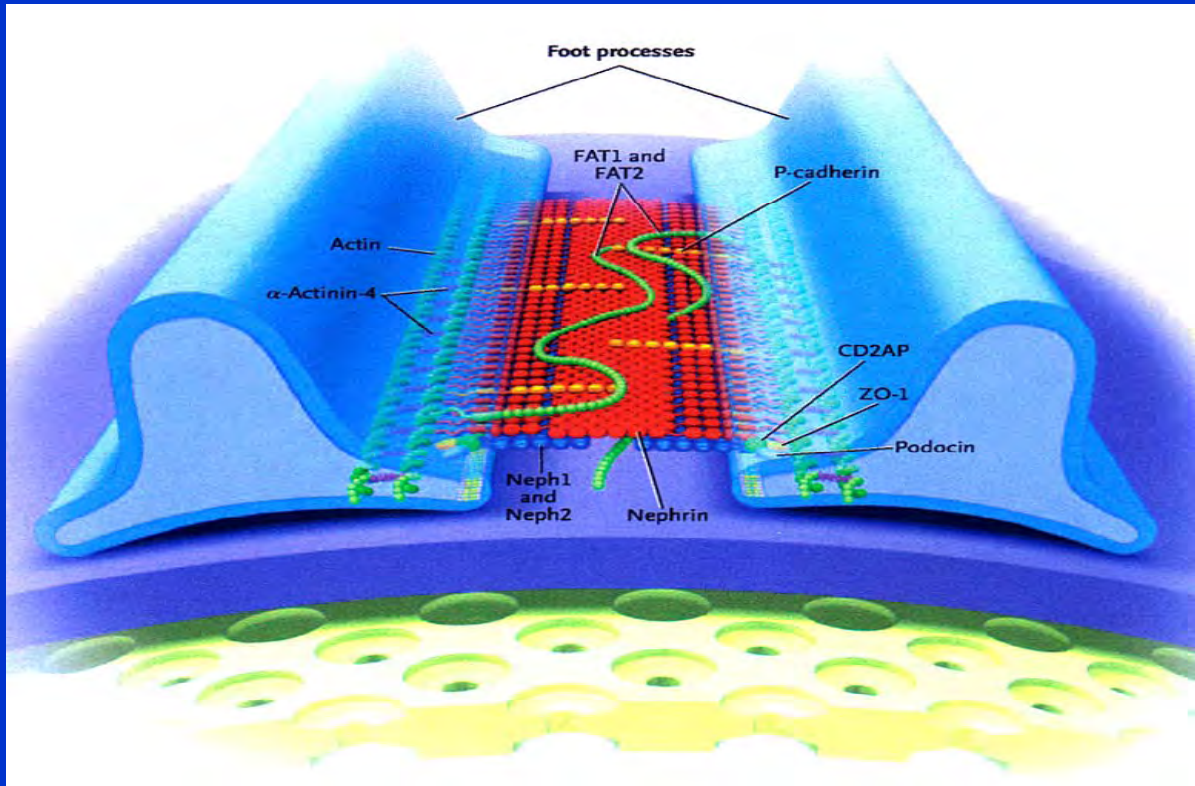
Nepfrin, Nephrin, Nephrin2 a SD



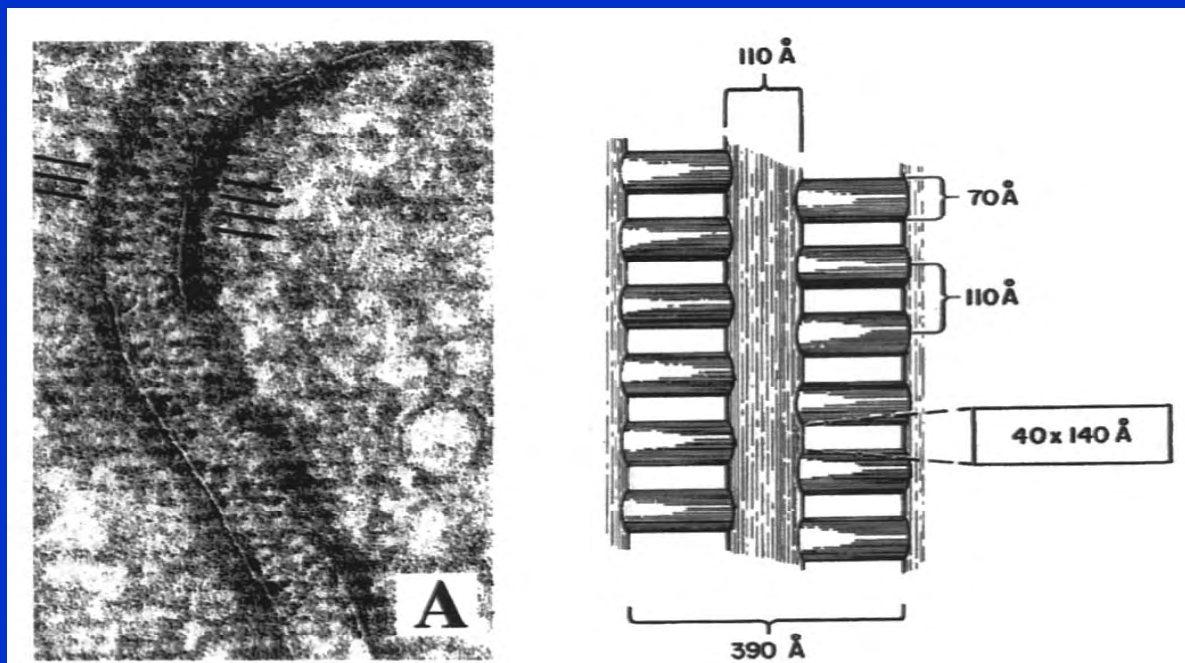
FAT a jeho umístění v SD



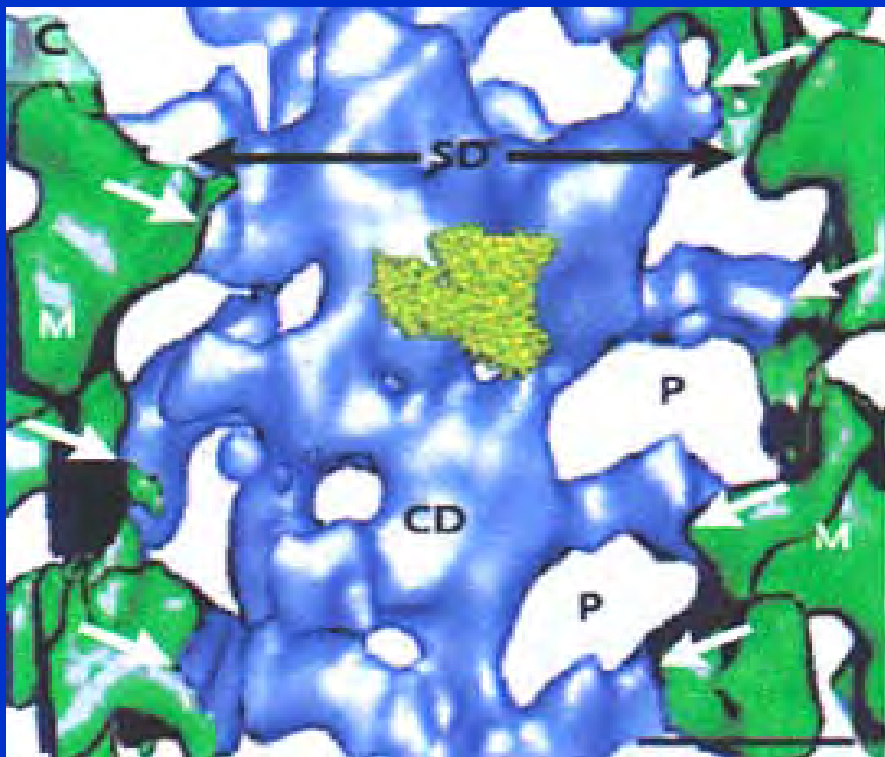
Komponenty komplexu SD



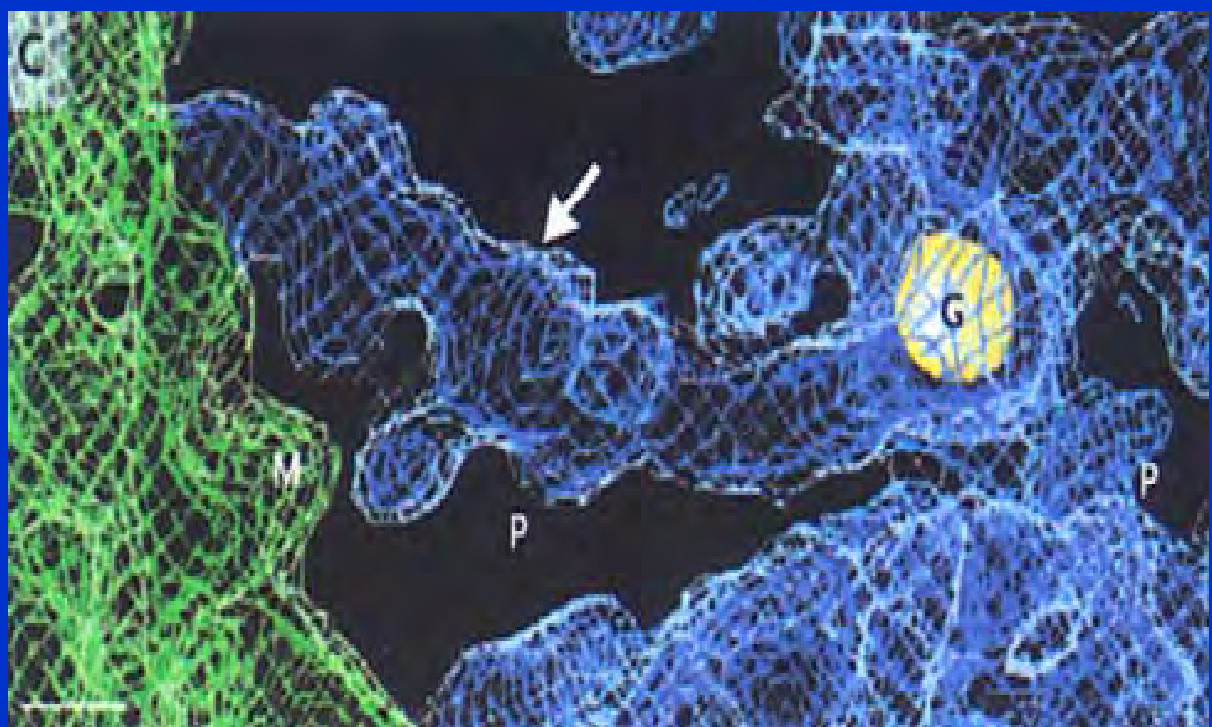
Ultrastrukturální obraz membrány mezi výběžky podocytů



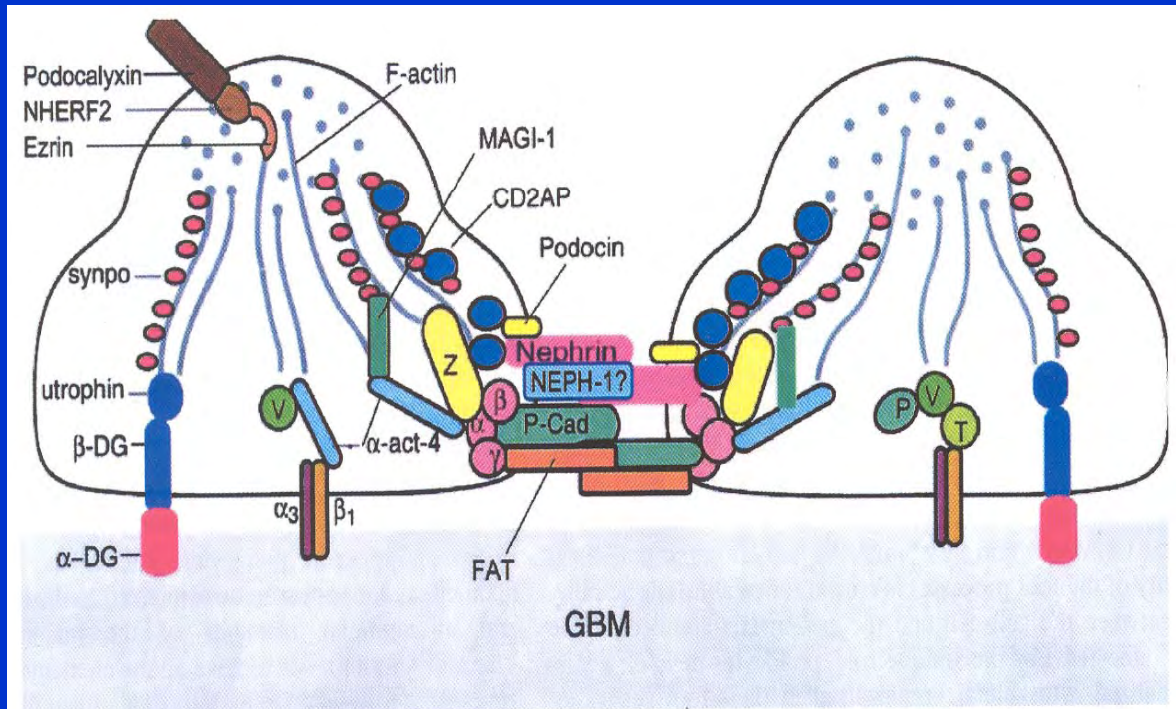
Elektron-tomografický obraz SD



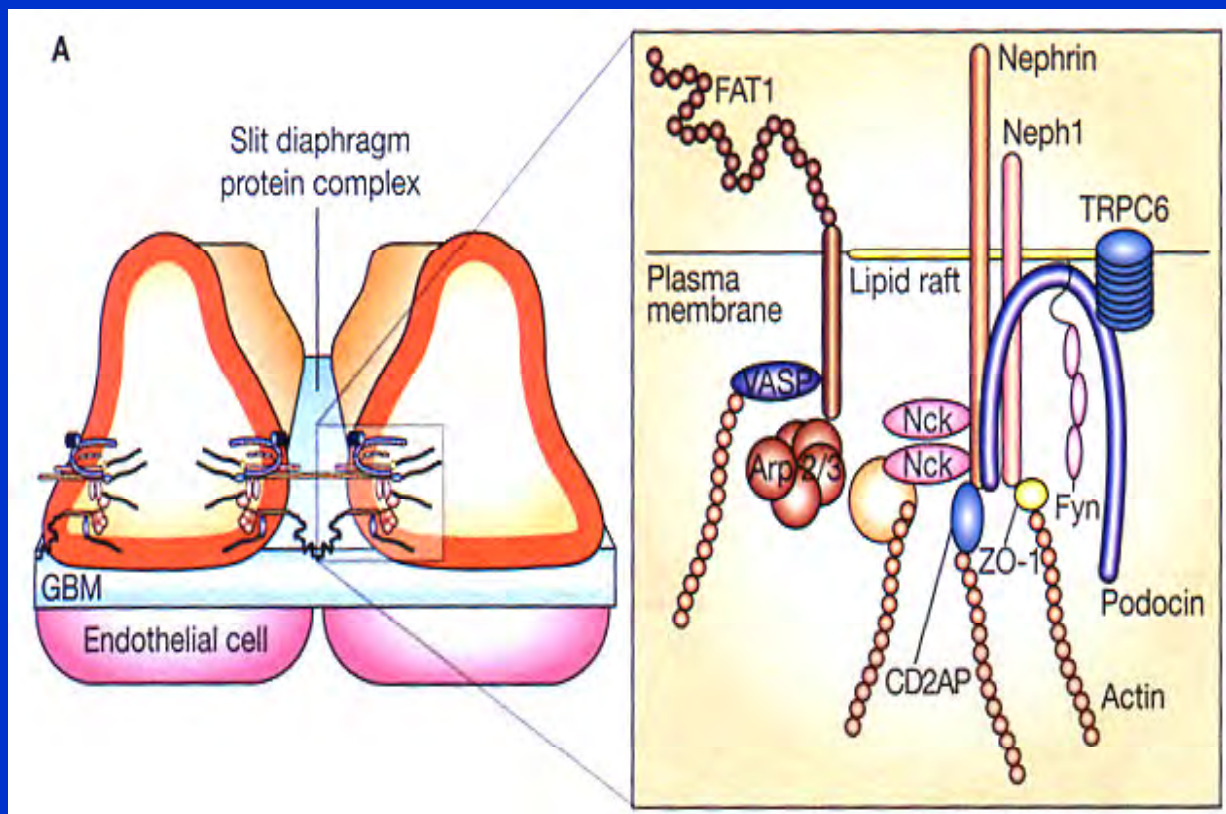
Pruhy nefrinu v SD



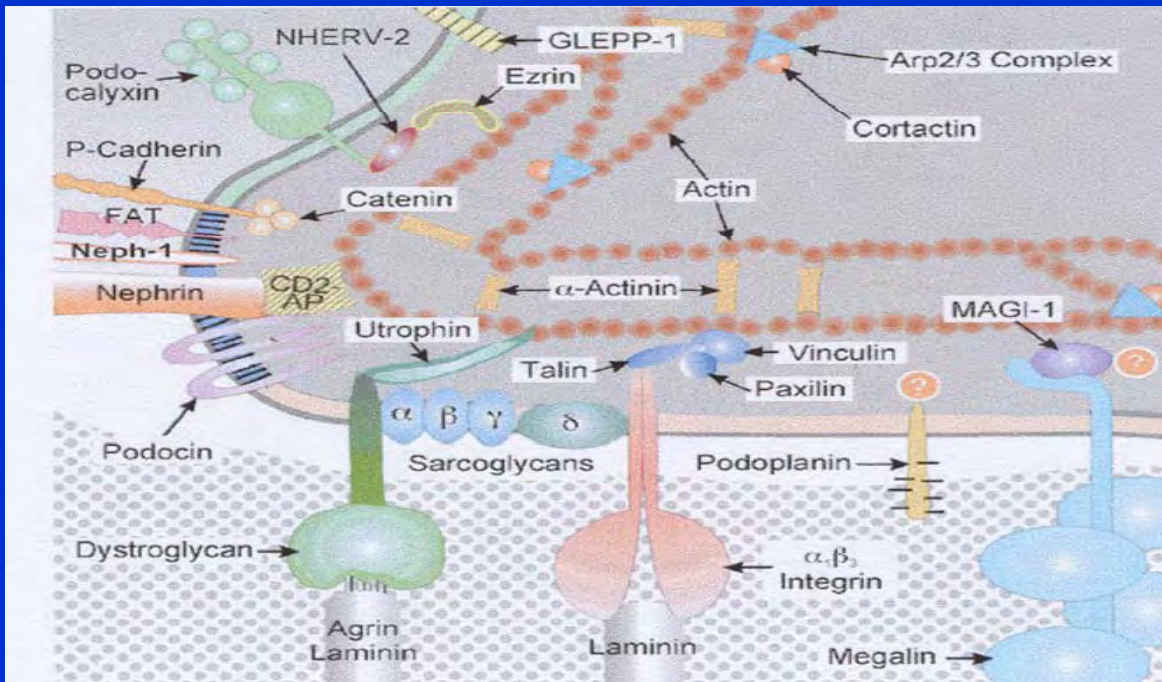
Mutace podocytárních proteinů u FSGS



„Lipid raft“ v podocytární membráně



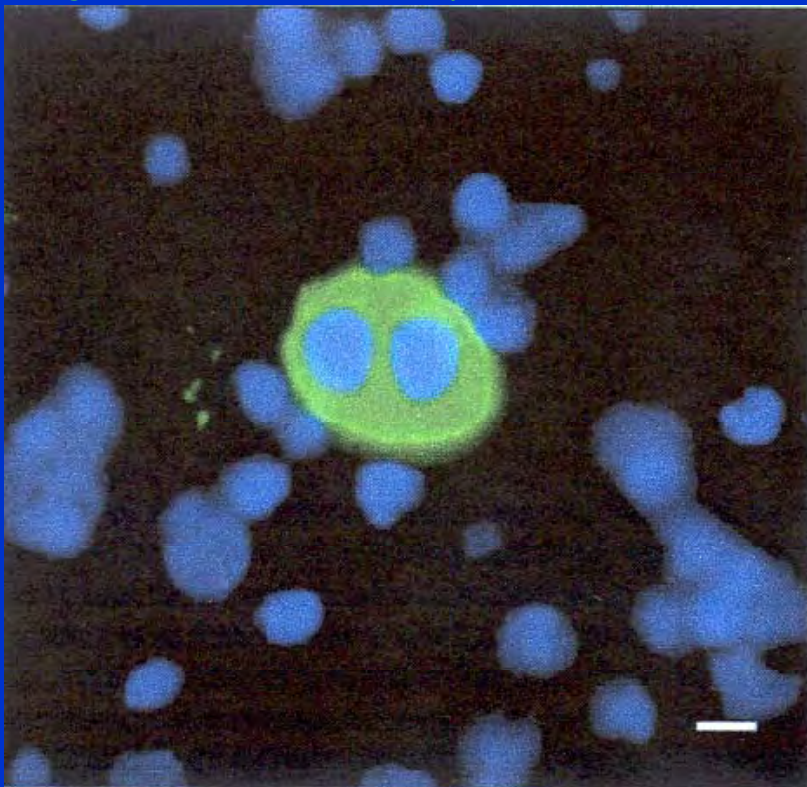
Latero-bazální oblast podocyty



Kerjaschki, J. Clin. Invest., 2001, 108: 1583 - 1587

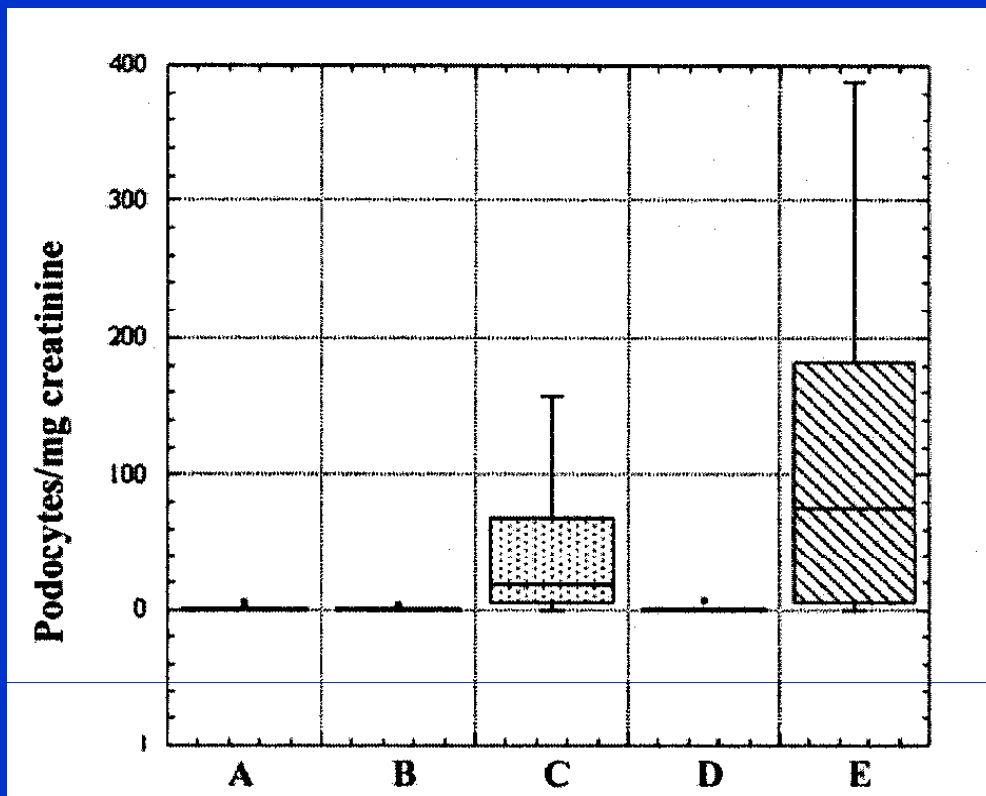
Močové podocyty označené protilátkami proti podokalyxinu

Vogelmann et al., Am. J. Physiol., 2003, 285: F40 – F48



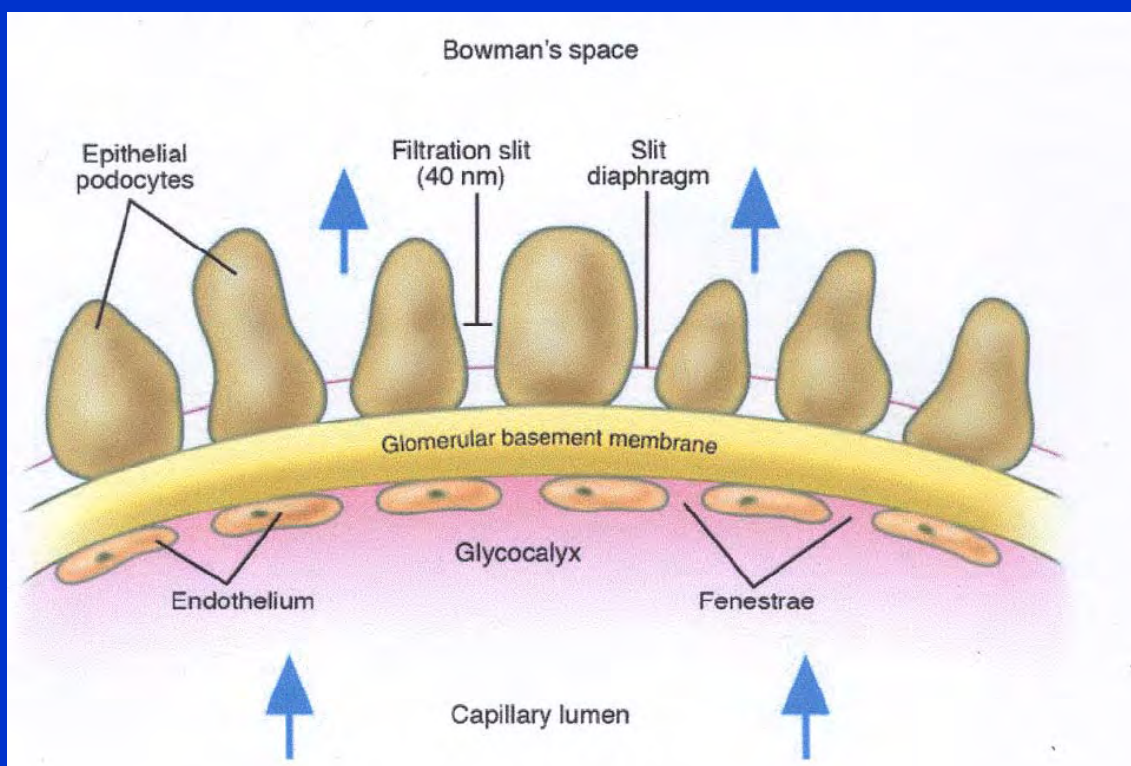
Exkrece podocytů do moči u FSGS a LN

Vogelmann et al., Am. J. Physiol., 2003, 285: F40 – F48



Glomerulární kapilární stěna

Deen, J.Clin.Invest., 2004, 1412 - 1414



Zjednodušená klasifikace glomerulopatií

1. Podocytopatie

- nefrotický syndrom s minimálními změnami glomerulů
- fokálně segmentální glomeruloskleróza
- membranózní nefropatie

2. Mesangiopatie

- IgA nefropatie
- membranoproliferativní GN

3. Nemoci s primárním poškozením endotelu

- preeklampsie, HUS/TTP
- typ III a IV LN, AAV

Podocytopatie

Poškození podocytů způsobené:

1. protilátkami proti podocytům

- membranózní nefropatie

2. genetickými, virovými, toxickými a imunologickými mechanismy

- fokálně segmentální glomeruloskleróza
- NS s minimálními změnami glomerulů

Proteinurie

Diagnostika

Patofyziologie

Význam v medicíně

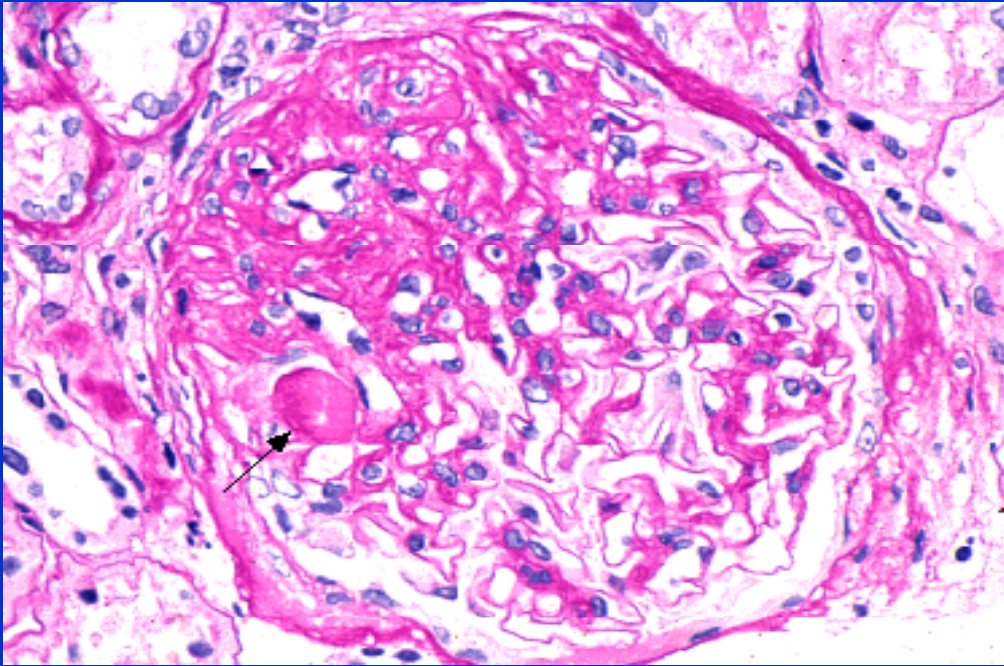
Podocyty

**Terminálně diferencované nedělicí se buňky,
ztrátu podocytů nelze doplnit**

Deplece podocytů – 1. proteinurie

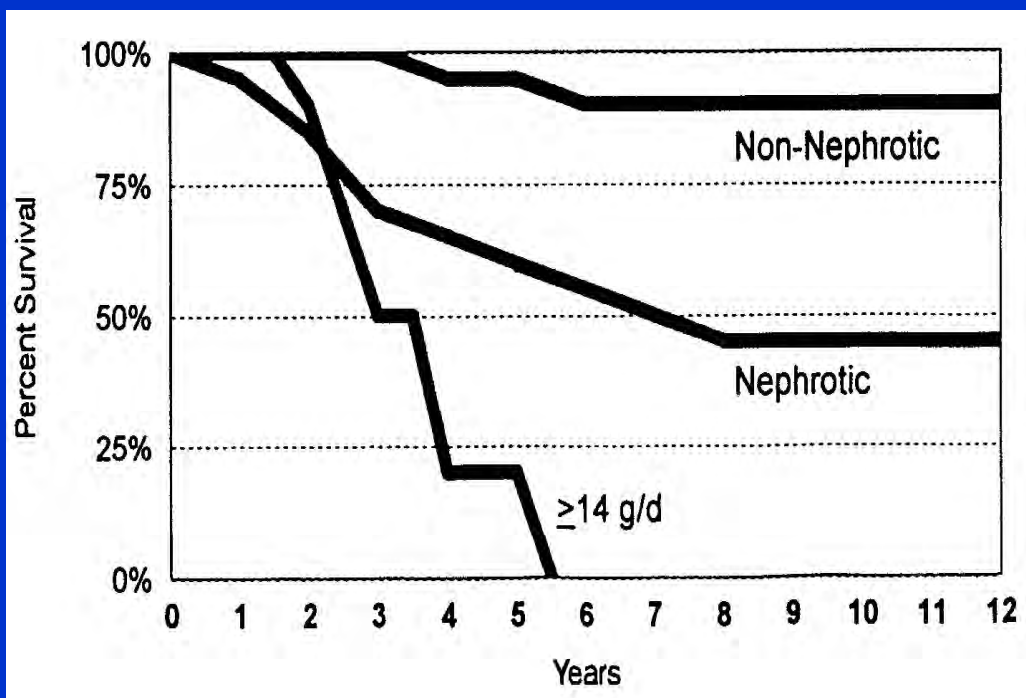
2. glomeruloskleróza

Fokálně segmentální glomeruloskleróza



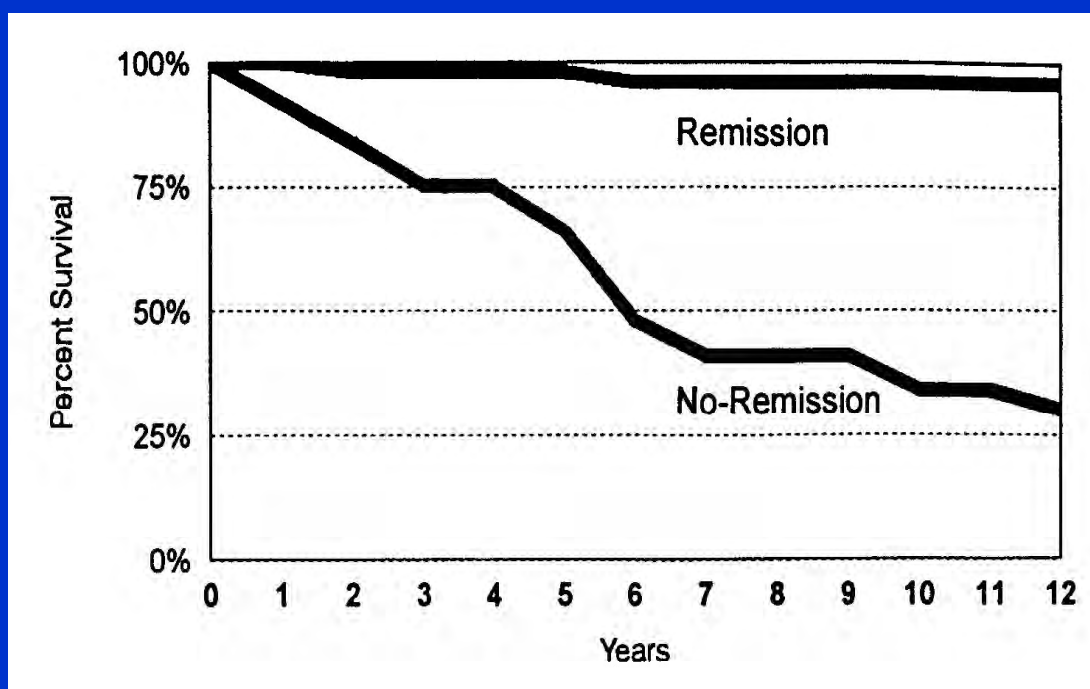
Kumulativní udržení nezávislé renální funkce u FSGS

Korbet, NDT, 14, 1999, Suppl. 3, s. 68 - 73



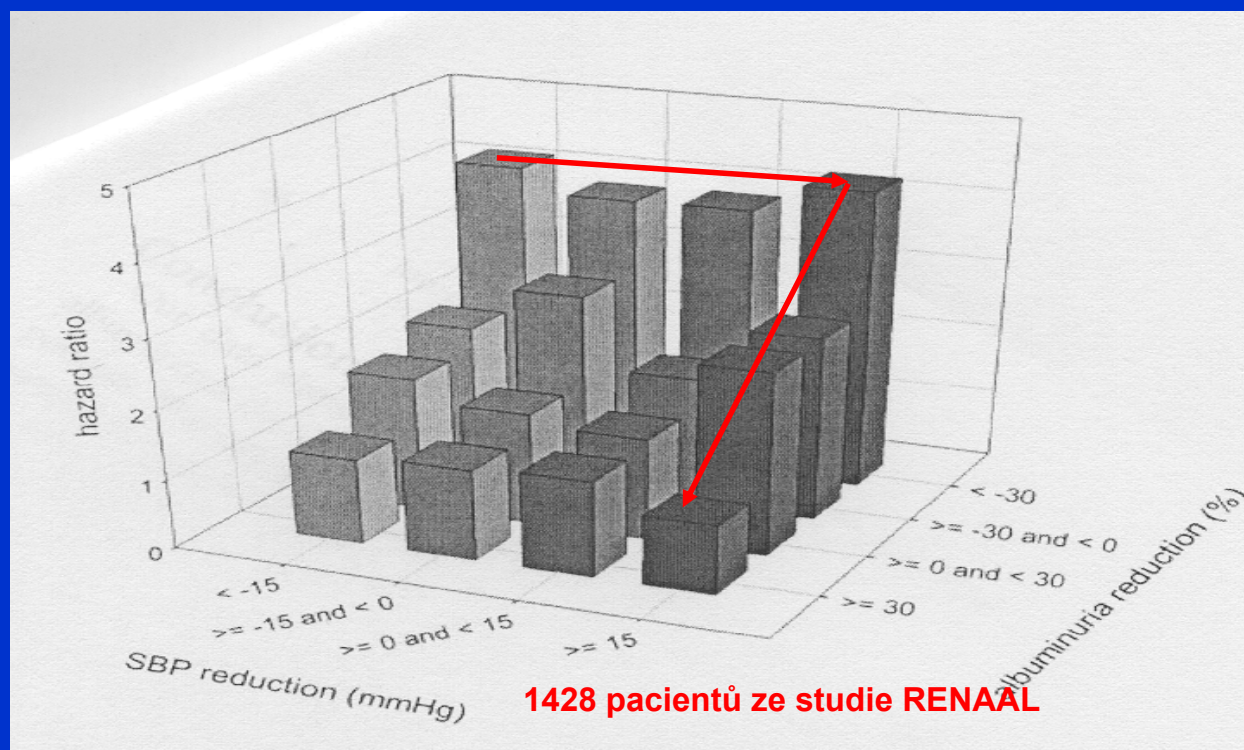
Kumulativní udržení nezávislé renální funkce u FSGS

Korbet, NDT, 14, 1999, Suppl. 3, s. 68 - 73



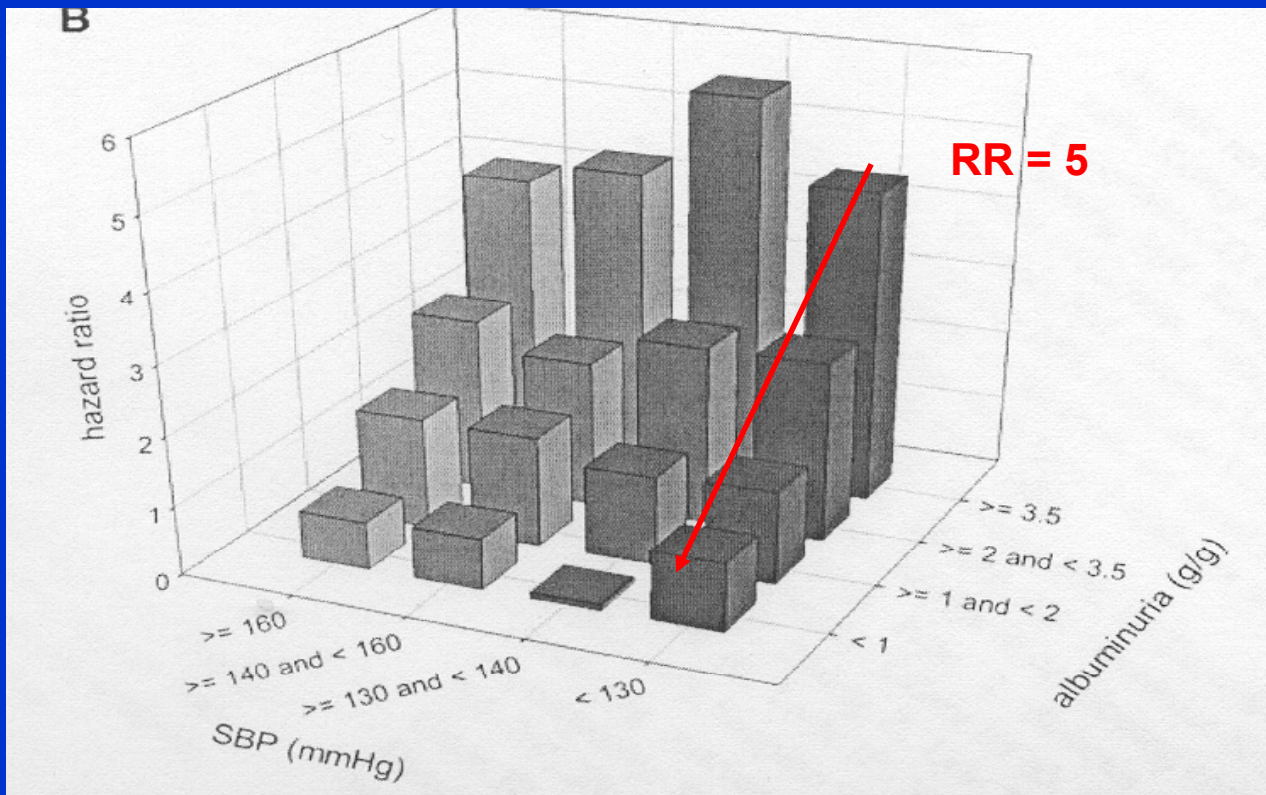
Albuminurie a riziko terminálního selhání ledvin (studie RENAAL)

(Eijkelkamp et al., J. Am. Soc. Nephrol., 2007; 18: 1540 - 1546)



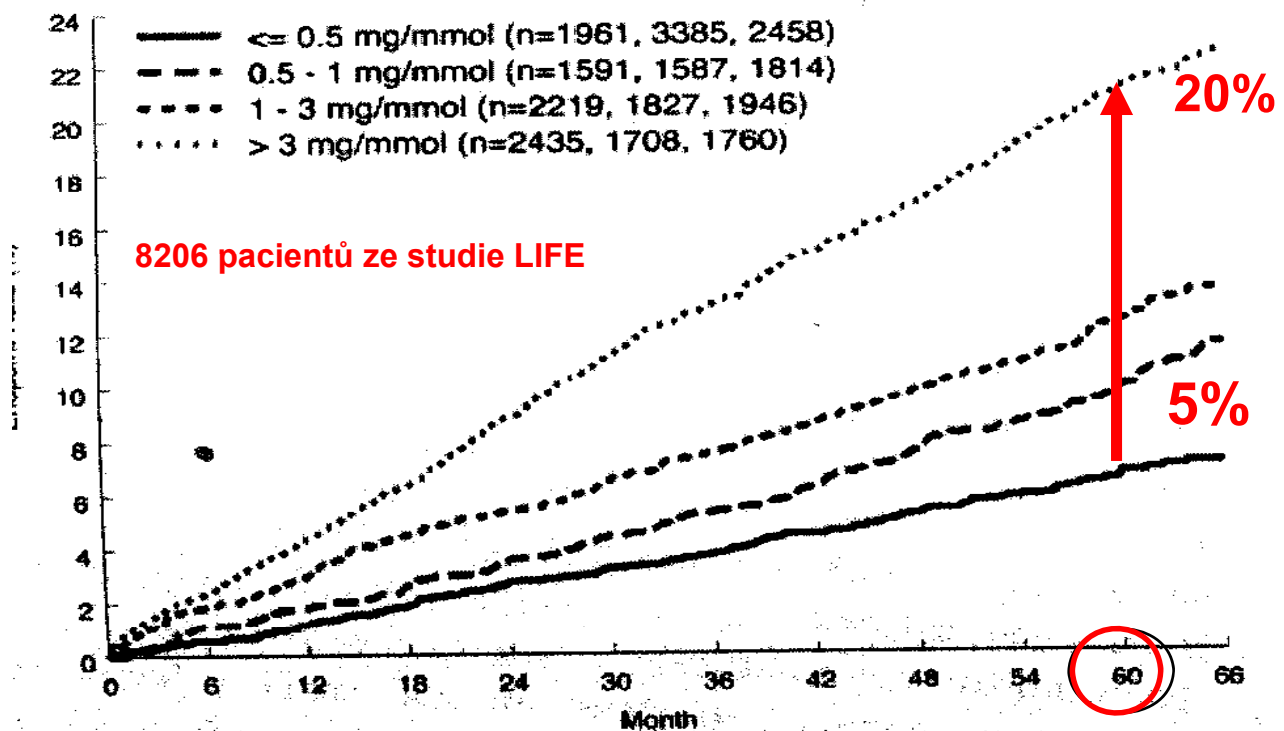
Reziduální albuminurie a riziko terminálního selhání ledvin (studie RENAAL)

(Eijkelkamp et al., J. Am. Soc. Nephrol., 2007; 18: 1540 - 1546)



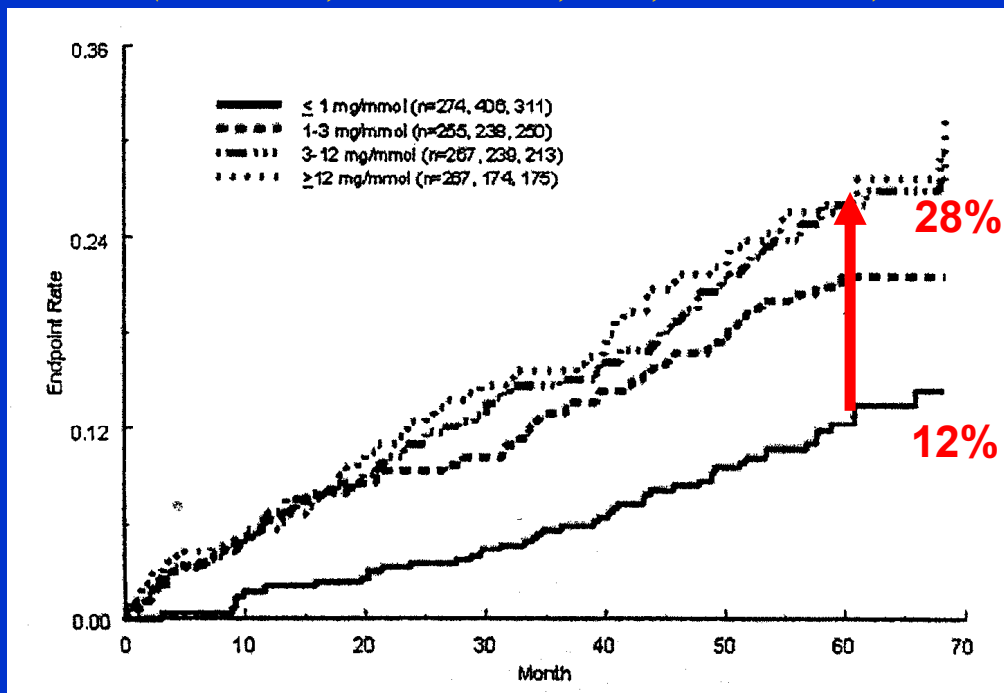
Albuminurie a kardiovaskulární riziko (studie LIFE)

(Ibsen et al., Hypertension, 2005; 45: 198 - 202)



Albuminurie a kardiovaskulární riziko u diabetiků s LVH (studie LIFE)

(Ibsen et al., *Diabetes Care*, 2006; 29: 595 - 600)

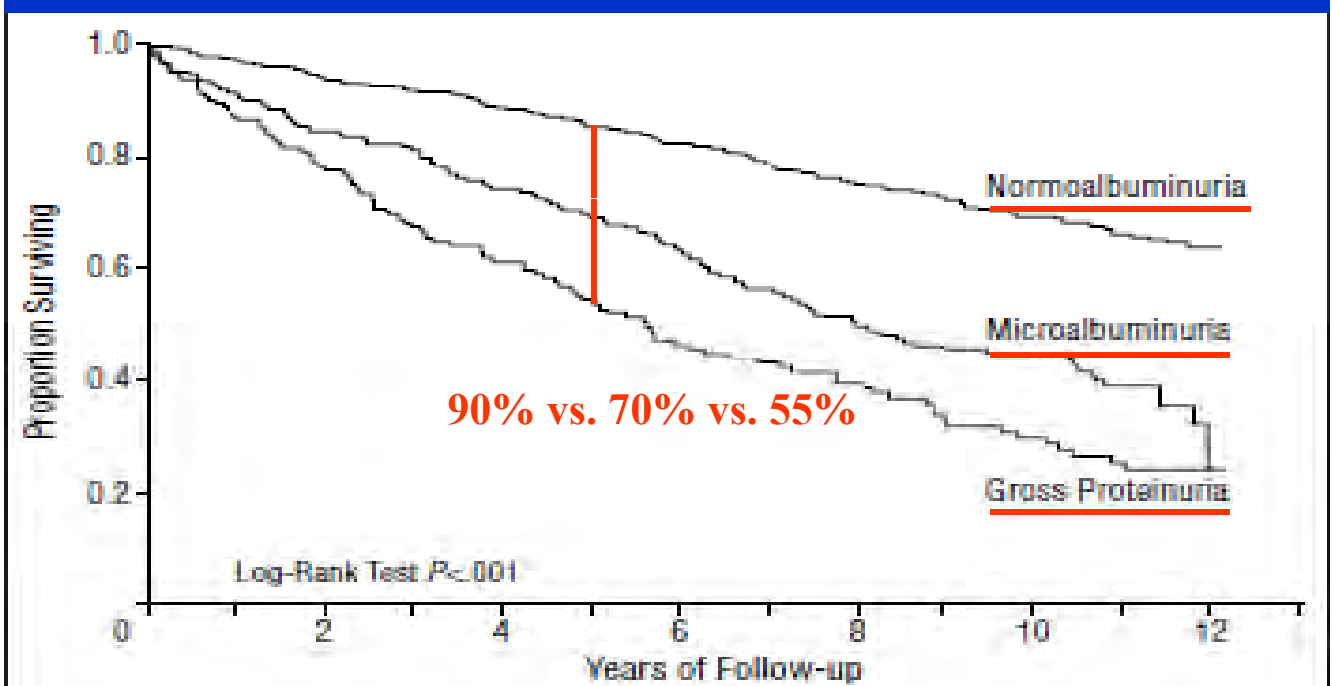


1063 diabetiků ze studie LIFE

The Risk of Cardiovascular Disease Mortality Associated With Microalbuminuria and Gross Proteinuria in Persons With Older-Onset Diabetes Mellitus

Charles T. Valmadrid, MD, MPH; Ronald Klein, MD, MPH; Scot E. Moss, MA; Barbara E. K. Klein, MD, MPH

Valmadrid et al., *Arch. Intern. Med.*, 2000, 160: 1093 - 1100



Urinary Albumin Excretion Predicts Cardiovascular and Noncardiovascular Mortality in General Population

Hans L. Hillege, MD; Vaclav Fidler, PhD; Gilles F.H. Diercks, MD; Wiek H. van Gilst, PhD; Dick de Zeeuw, MD; Dirk J. van Veldhuisen, MD; Rijk O.B. Gans, MD; Wilbert M.T. Janssen, MD; Diederick E. Grobbee, MD; Paul E. de Jong, MD; for the Prevention of Renal and Vascular End Stage Disease (PREVEND) Study Group*

(*Circulation*. 2002;106:1777-1782.)

Cardiovascular death

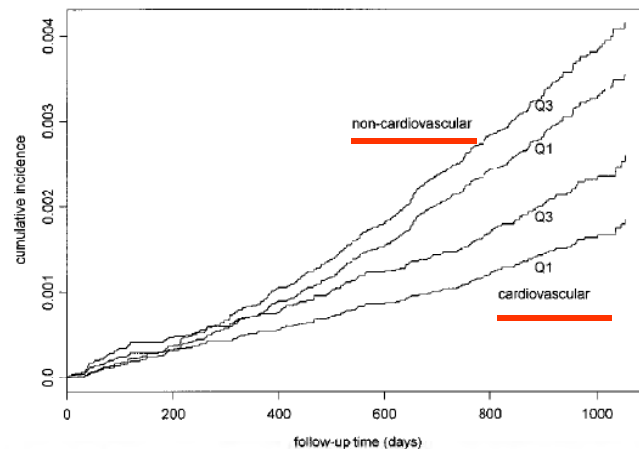
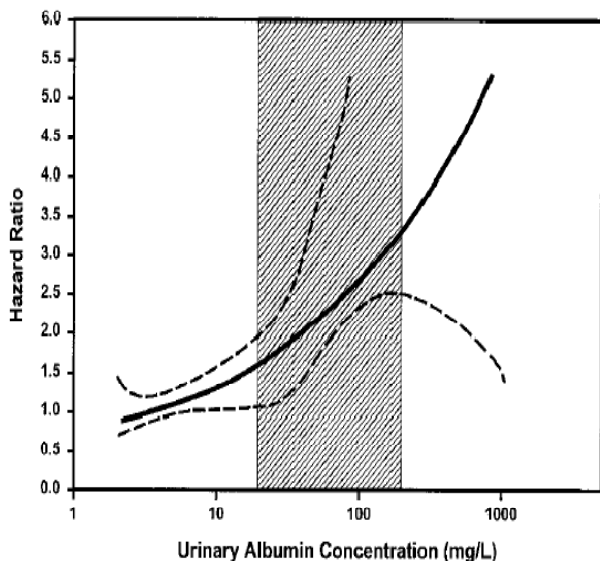


Figure 2. Cause-specific cumulative incidence functions of CV and non-CV mortality for nonhypertensive, nonhyperlipidemic, nondiabetic, nonsmoking 50-year-old males with no history of myocardial infarction or stroke, with UAC levels set equal to 25th percentile (quartile 1 [Q1], 3.8 mg/L) and 75th percentile (quartile 2 [Q3], 9.8 mg/L).

Proteinuria and Risk for Stroke and Coronary Heart Disease During 27 Years of Follow-up

The Honolulu Heart Program

James R. Madison, DO, MS; Christian Spices, MD; Irwin J. Schatz, MD; Kamal Masaki, MD; Randi Chen, MS; Katsuhiko Yano, MD; J. David Corb, MD

Madison et al., Arch. Intern. Med., 2006, 166: 884 - 889

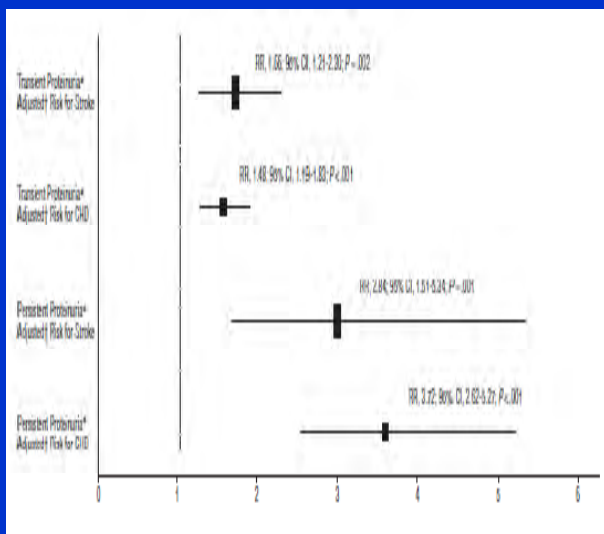


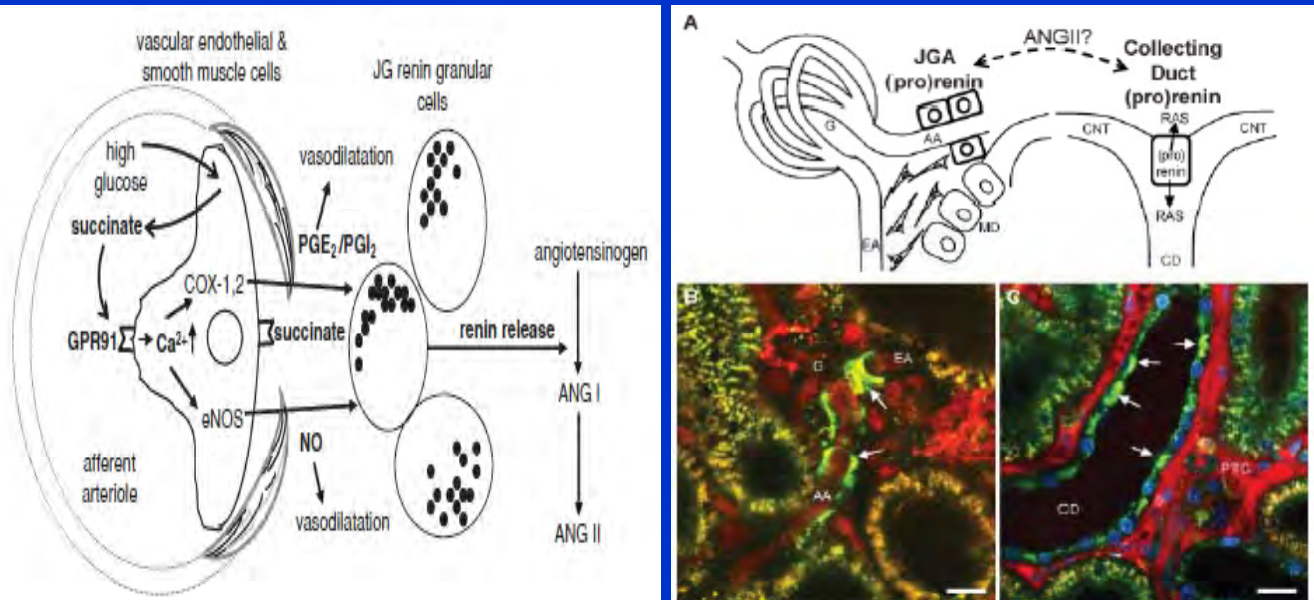
Table 2. Raw and Age-Adjusted Incidence Rates per 1000 Person-Years of Incident Stroke and Incident Coronary Heart Disease (CHD) by Proteinuria Group*

Outcome	Proteinuria Group		
	No	Transient	Persistent
No. of subjects	5802	381	69
Incident stroke events	391	49	17
Age-adjusted incidence rate of stroke per 1000 person-years	3.7	7.3	11.8
Incident CHD events	1017	101	40
Age-adjusted incidence rate of CHD per 1000 person-years	9.4	15.8	35.2

Activation of the renal renin–angiotensin system in diabetes—new concepts

János Peti-Peterdi, Jung Julie Kang and Ildiko Toma

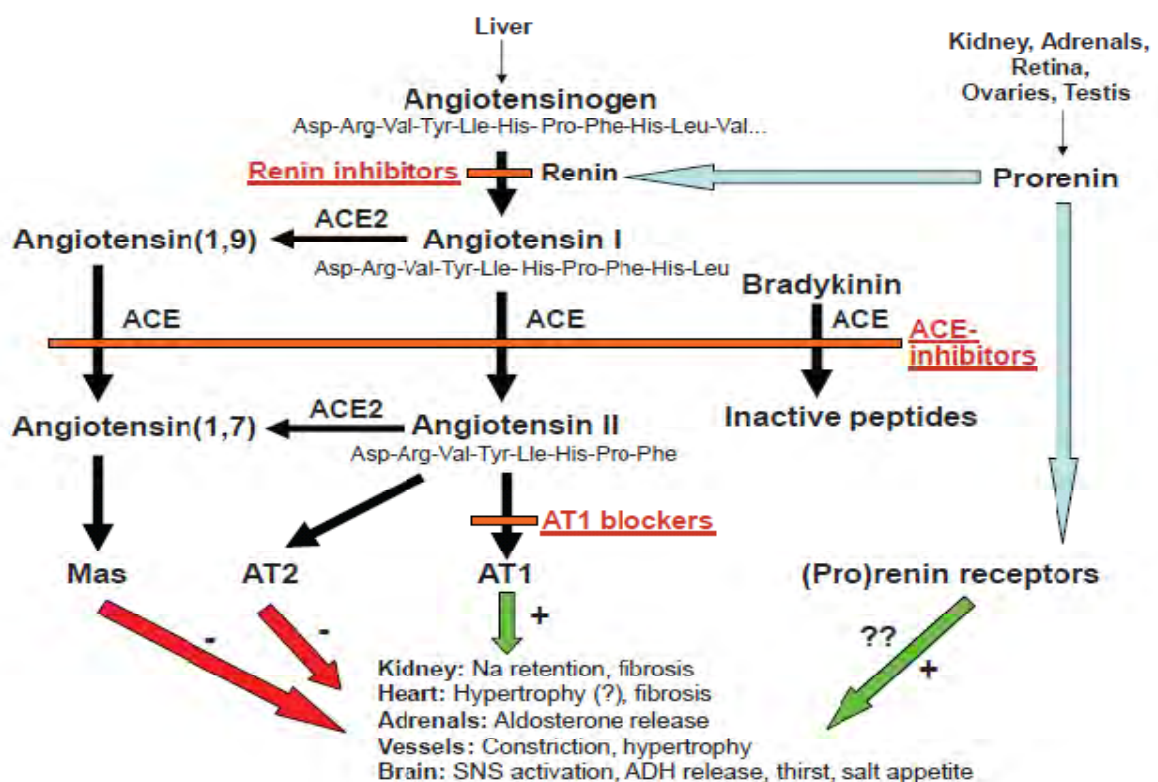
Nephrol Dial Transplant (2008) 23: 3047–3049
doi: 10.1093/ndt/gfn377
Advance Access publication 20 July 2008



The renin angiotensin system in the development of cardiovascular disease: role of aliskiren in risk reduction

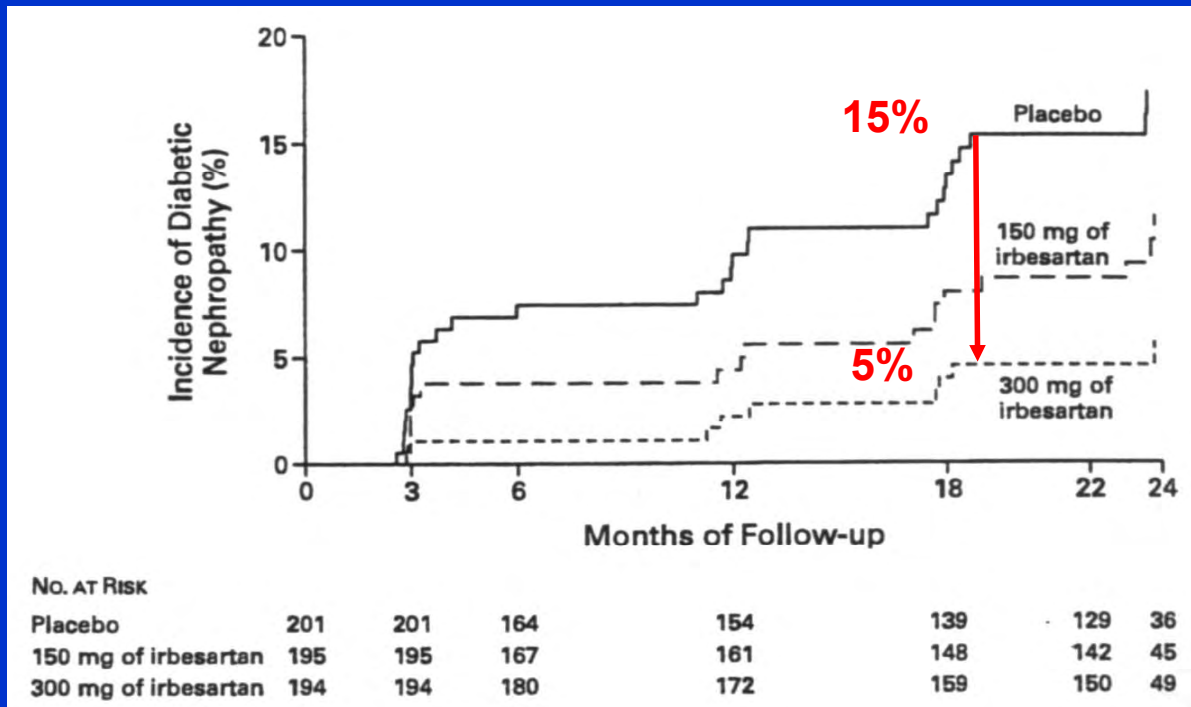
Paolo Verdecchia¹
Fabio Angeli¹
Giovanni Mazzotta¹
Giorgio Gentile²
Gianpaolo Reboldi²

Vascular Health and Risk Management 2008;4(5) 971–981



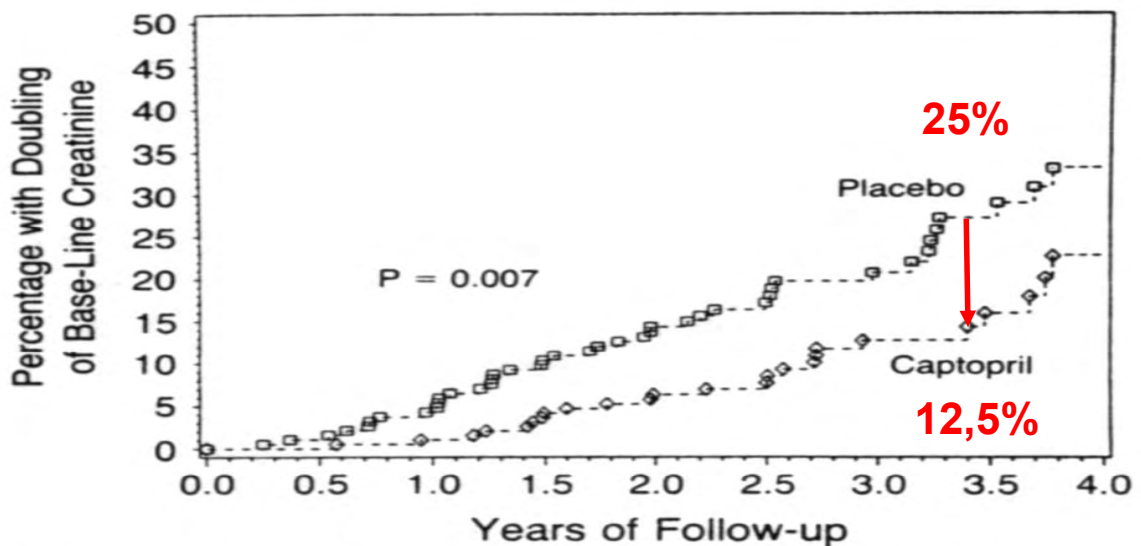
Incidence vývoje manifestní diabetické nefropatie

(Parving et al., *N Engl J Med* 2001; 345: 870 - 878)



Kumulativní incidence zdvojnásobení kreatininu u pacientů s diabetem 1. typu

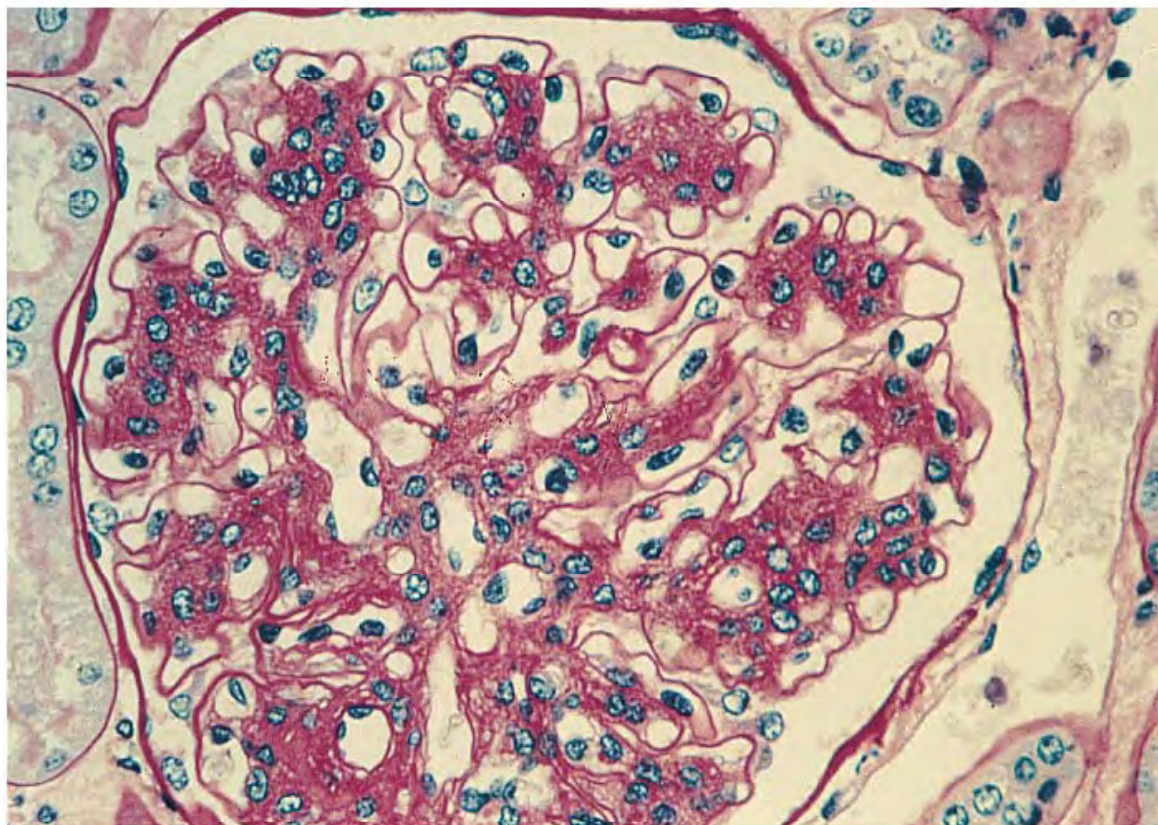
(Lewis et al., *N Engl J Med* 1993; 329: 1456 - 1462)



	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
Placebo	202	184	173	161	142	99	75	45	22
Captopril	207	199	190	180	167	120	82	50	24

Příčiny terminálního selhání ledvin – vztah k proteinurii

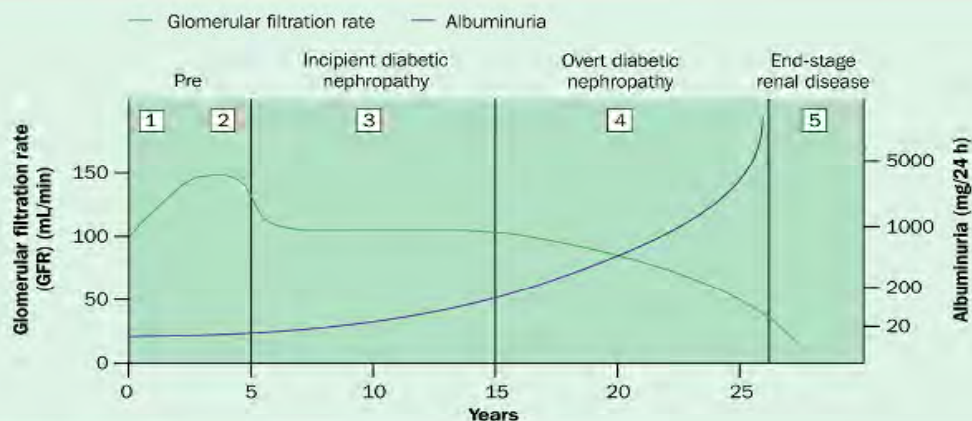
Diabetická nefropatie	35%
<i>Hypertenze</i>	25%
Glomerulonefritidy	20%
Polycystické ledviny	8%
Intersticiální nefritidy	5%
Jiné	7%



Stadia diabetické nefropatie u diabetu 1.typu

	alb	prot	krea
Hyperfiltrační	+ -	-	-
Latentní	-	-	-
Incipientní	+	-	-
Manifestní	+++	+	-
Selhání ledvin	++	++	++

Natural history of type 1 diabetic nephropathy



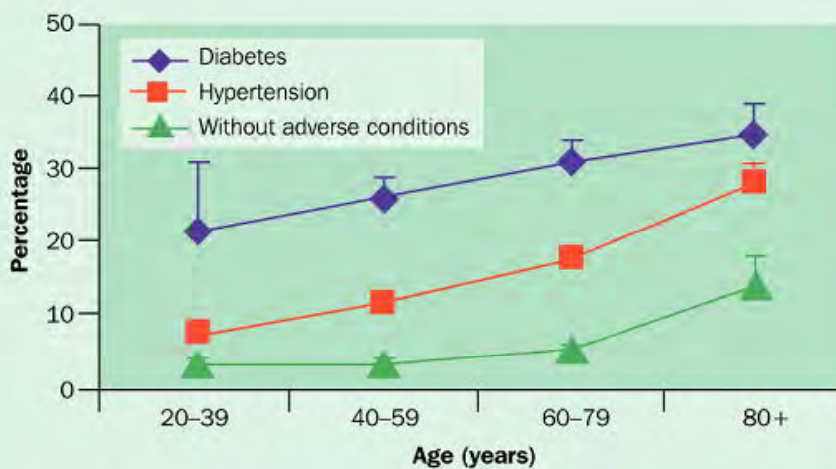
Stage	Pre	Incipient	Overt
Functional	GFR ↑ (25–50%)	Microalbuminuria, hypertension	Proteinuria, nephrotic syndrome, GFR ↓
Structural	Renal hypertrophy	Mesangial expansion, glomerular basement membrane thickening, arteriolar hyalinosis	Mesangial nodules (Kimmelstiel–Wilson lesions) Tubulointerstitial fibrosis

Mikroalbuminurie

albuminurie

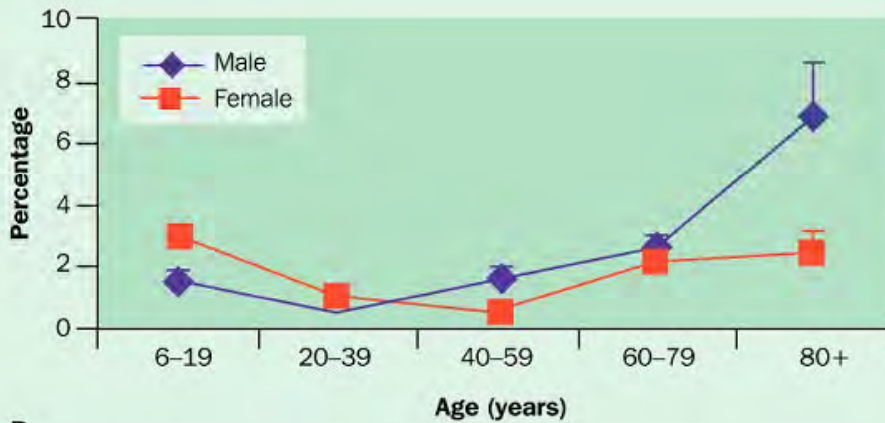
	mg/den	$\mu\text{g}/\text{min}$	mg/mmol kreat
Normoalb	< 30	< 20	< 3,5
Mikroalb	30 – 300	20 - 200	3,5 - 35
Proteinurie	> 300	> 200	> 35

Frequency of microalbuminuria by age and disease



A

Frequency of albuminuria by age and gender



B

© 2003, Elsevier Limited. All rights reserved.

Prevalence a incidence albuminurie a proteinurie u diabetu

	typ I	typ II
Prevalence		
Mikroalbuminurie (%)	16	38
Proteinurie (%)	15	15
V době diagnózy (%)	0	9
Incidence Pu (%/rok)	1,2	1,5
Kumulativní incidence DN (%/ 25 let)	35	28

Albuminurie a hypertenze, retinopatie, neuropatie a nefropatie u diabetu 1.typu

	Normo	Mikro	Makro
Prevalence hypertenze (%) (TK > 140/90)	20	40	80
Prevalence proliferativní retinopatie (%)	12	28	58
Prevalence slepoty (%)	1	6	11
Prevalence neuropatie (%)	21	31	50
Riziko vývoje proteinurie (%) (během 5 let sledování u normotenzních pacientů)	0,5	29	-

Pokles glomerulární filtrace (ml/min/rok) v závislosti na albuminurii

	typ I	typ II
Normoalbuminurie	1,2 - 3,6	0,96
Mikroalbuminurie	1,2 - 3,6	2,4
Proteinurie	9,6 - 12	5,4 - 7,2

Albuminurie a progrese u diabetu 1.typu

(Hovind et al., Brit. Med. J., 2004)

- ❑ Perzistentní mikroalb vyvine během prvních 20 let diabetu 1.typu cca 1/3 pacientů
- ❑ Prediktory perzistentní mikroalbuminurie (RR):
 - 10x vyšší albuminurie - 3,78
 - mužské pohlaví - 2,41
 - ↑ MAP o 10 mm Hg - 1,38
 - ↑ glyk Hb o 1% - 1,18

Albuminurie a progrese u diabetu 1.typu

(Chaturvedi et al., Kidney Int., 2001)

- ❑ 1134 normoalb a 578 mikroalb pacientů s 15 let trvajícím diabetem sledováno 7,3 roku
- ❑ Mikroalb se vyvinula u 13% a makroalb u 1,7% původně normoalb pacientů
- ❑ Mikroalb se normalizovala u 51% a progredovala do makroalb u 14% původně mikroalb pacientů

Albuminurie a progrese u diabetu 2.typu

(Rachmani et al., *Diabetes Res Clin Pract*, 2000)

- Normoalb pacienti rozdělení do 3 skupin podle velikosti albuminurie a sledování 9 let

Albuminurie	n	progrese do Mikroalb
0 – 10 mg/24 h	359	25%
10 - 20 mg/24 h	131	47%
20 - 30 mg/24 h	109	85%

Clinical Practice Guidelines for Diabetes and Kidney Disease

(*Am. J. Kidney Dis.*, 2007, 49 (Suppl. 2): 1 - 178)

Guideline 1 – Screening and Diagnosis of Diabetic Kidney Disease

1. Pacienti s diabetem by měli být vyšetřeni jednou ročně na přítomnost diabetického onemocnění ledvin:
 - a. 5 let od diagnózy u typu 1
 - b. od diagnózy u typu 2

Skríninkové vyšetření zahrnuje:

- a. vyšetření poměru albumin/kreatinin ve vzorku moči
- b. měření sérového kreatininu a odhad GF

Clinical Practice Guidelines for Diabetes and Kidney Disease

(Am. J. Kidney Dis., 2007, 49 (Suppl. 2): 1 - 178)

2. **nález zvýšeného poměru albumin/kreatinin by měl být potvrzen v následujících 3-6 měsících ve dvou dalších vzorcích moči (nutno vyloučit UTI)**
 - **pro diagnózu mikroalbuminurie (makroalbuminurie) musí být v tomto rozmezí (cca 2,5 – 25 mg/mmol) 2 ze 3 vzorků**

Renální komplikace diabetu

	Pu	ery	krea
Diabetická nefropatie	++	-	-
Ischemická nefropatie	-	-	++
Glomerulonefritidy	+++	+	-
Infekce močových cest			
Neurogení měchýř			

Clinical Practice Guidelines for Diabetes and Kidney Disease

(Am. J. Kidney Dis., 2007, 49 (Suppl. 2): 1 - 178)

3. chronické onemocnění ledvin je pravděpodobně způsobeno diabetem, je-li přítomna:
 - a. makroalbuminurie
 - b. mikroalbuminurie a diabetická retinopatie
 - c. mikroalbuminurie u diabetu 1. typu po alespoň 10 letech trvání diabetu

Clinical Practice Guidelines for Diabetes and Kidney Disease

(Am. J. Kidney Dis., 2007, 49 (Suppl. 2): 1 - 178)

4. Jiné příčiny chronického onemocnění ledvin by měly být zváženy při:
 - a. absenci diabetické retinopatie
 - b. nízké nebo rychle klesající GF
 - c. rychle narůstající proteinurii nebo náhle vzniklém nefrotickém syndromu
 - d. refrakterní hypertenzi
 - e. mikroskopické hematurii
 - f. příznacích jiného onemocnění ledvin
 - g. poklesu GF o více než 30% během 2-3 měsíců po zahájení léčby ACE či AIIA

Závěry

Patogeneze proteinurie

- porucha permeability glomerulární kapilární stěny
- podocyty

Proteinurie

- prediktor rizika vývoje terminálního selhání ledvin

Proteinurie/albuminurie

- prediktor kardiovaskulární morbidity/mortality