

Министерство образования и науки РФ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Специальность: 06.03.01 (ОКСО 020400.62) – генетика

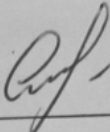
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Бакалаврская работа

ПРОФИЛЬ БЕЛКОВ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ
ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Работа завершена:

« 5 » июня 2017 г.

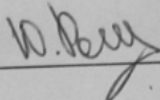

_____ (С.Ю. Ефремова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

к.б.н., н.с.

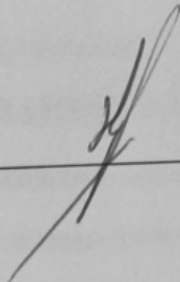
« 5 » июня 2017 г.


_____ (Ю.Д. Романова)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

" 5 " июня 2017 г.


_____ (В.М. Чернов)

Казань-2017

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И ИНЫХ ИСТОЧНИКОВ	8
1.1 Хроническая почечная недостаточность	8
1.1.1 Лечение ХПН	10
1.2 Трансплантация почки	11
1.2.1 Отторжение почечного трансплантата	13
1.2.2 Маркеры отторжения	16
1.3 Система комплимента	18
1.3.1 ЦИК	22
Заключение	25
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	26
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	26
2.1 Образцы биологического материала	26
2.2 Трипсинолиз белков сыворотки крови в растворе	26
2.3 Очистка пептидов с помощью ТФЭ	27
2.4 Количественный протеомный анализ	27
2.4.1 Определение содержания белков в образцах с помощью ионной ловушки	27
2.4.2 Биоинформационный анализ в программе Skyline	28
2.4.3 MRM-метод	29
2.5 Статистическая обработка результатов	29
2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ	31
3.1 Сравнительный протеомный анализ сыворотки крови пациентов после трансплантации почки и условно-здоровых людей	31
3.2 Получение триптических пептидов белков сыворотки крови	32
3.3 Биоинформационный анализ в программе Skyline	32

ВЫВОДЫ	Алиментарно-превращающий фермент	41
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ		42

АТФ	Аденозинтрифосфат
ЛПВП	Липопротеины высокой плотности
ЛПНП	Липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	Липопротеины очень низкой плотности
ЛХАТ	Лецитинхолестеринилтрансфераза
МАК	Мембраностабилизирующий комплекс
ПН	Почечная недостаточность
РААС	Ренин-ангиотензин-альдостероновая система
РГНХ	Резерва «трансплантат против мозака»
СКФ	Скорость клубочковой фильтрации
СРБ	С-реактивный белок
ТФЭ	Твердофазная экстракция
ХБП	Хроническая болезнь почек
ХОТ	Хроническое отторжение трансплантата
ХПН	Хроническая почечная недостаточность
ЦИК	Циркулирующие иммунные комплексы
ЦНС	Центральная нервная система

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время распространенность хронической болезни почек (ХБП) в развитых странах составляет около 11%, при этом неизбежно возрастает связанная с нею смертность [Столяр, 2014]. По сведениям Всемирной организации здравоохранения, патология почек и мочевых путей ежегодно приводит к смерти приблизительно 1 млн. человек из 30-35 млн. лиц, умирающих от всех хронических заболеваний [Батюшин, Повилайтите, 2009].

ХБП в терминальной стадии приводит к необходимости применения дорогостоящих методов заместительной терапии – диализа и пересадки почки. Трансплантация является оптимальной терапией при терминальной стадии хронической почечной недостаточности, которая позволяет увеличить продолжительность жизни больного в 1,5-2 раза. Однако, одним из главных факторов, вызывающих гибель функционирующей почечной ткани у реципиента после трансплантации, является острое отторжение. Под отторжением понимают воспалительное поражение трансплантата, вызванное специфической реакцией иммунной системы реципиента на трансплантационные антигены донора. В реакцию взаимодействия между иммунной системой реципиента и антигенами донорского почечного аллотрансплантата вовлечены практически все механизмы клеточного и гуморального иммунного ответа.

Известен способ диагностики острого отторжения трансплантата, заключающийся в проведении чрезкожной биопсии почечного аллотрансплантата с последующим гистологическим исследованием биопсийного микропрепарата [Шумаков, 2006].

Недостатками данного способа являются инвазивность, привлечение для проведения биопсии нескольких специалистов, использование дорогостоящих реактивов для приготовления микропрепаратов, угроза

здоровью пациента в результате развития различных осложнений, таких как паранефральная гематома, гематурия, развитие артериовенозных шунтов, инфекции, вплоть до потери трансплантата [Мойсюк *с соавт.*, 2009].

Вследствие этого актуальной задачей в диагностике острого и хронического отторжения остается развитие неинвазивных способов диагностики. Таким образом, нами было проведено исследование образцов сыворотки крови, полученных от пациентов, больных хронической почечной недостаточностью и перенесших трансплантацию почки в Республиканской клинической больнице (РКБ) г. Казани для поиска ранних маркеров отторжения почечного трансплантата.

Цель настоящей работы – провести оценку потенциальных белковых маркеров отторжения почки в посттрансплантационный период.

В соответствии с поставленной целью были сформулированы следующие **задачи**:

1) Получить триптические пептиды белков сыворотки крови условно-здоровых лиц и пациентов после трансплантации почки

2) *In silico* с помощью программы Skyline получить список пептидов для мониторинга множественных реакций

3) Оценить концентрации отдельных белков с помощью масс-спектрометра QTrap AB Sciex 6500.