

## ỨNG DỤNG PROTEOMICS TRONG LÂM SÀNG ĐÁNH GIÁ CÁC BỆNH LÝ THẬN

**Trần Thái Thanh Tâm**

*Trường Đại học Y Dược Cần Thơ*

### TÓM TẮT

*Bệnh thận là một trong những nguyên nhân thường gặp nhất gây tử vong trên toàn thế giới. Dấu ấn sinh học có khả năng đơn giản hóa việc chẩn đoán và điều trị bệnh nhân mắc các dạng bệnh thận khác nhau. Công nghệ proteomic đã cung cấp cho các nhà sinh lý thận học và các bác sĩ thận học những công cụ mới mạnh mẽ hơn để hiểu các cơ chế bình thường và các cơ chế bệnh sinh tại thận. Mục đích của bài này nhằm cung cấp một tổng quan về công nghệ proteomics hiện đang được áp dụng trong các nghiên cứu về thận và nhấn mạnh một số ứng dụng của proteomics trong việc khám phá dấu ấn sinh học ứng dụng trong lâm sàng đánh giá các bệnh lý thận.*

**Từ khóa:** proteomics, bệnh thận, bệnh cầu thận màng, bệnh thận mạn, bệnh thận đái tháo đường, ghép thận

### ABSTRACT

#### PROTEOMICS FOR CLINICAL ASSESSMENT OF KIDNEY DISEASE

**Tran Thai Thanh Tam**

*Can Tho University of Medicine and Pharmacy*

*Kidney disease is one of the most common causes of death worldwide. Biomarkers have the potential to simplify the diagnosis and treatment of patients with various forms of kidney disease. Proteomic technologies have given renal physiologists and nephrologists broadened, powerful new tools for understanding normal and disease-related mechanisms in the kidney. The aim of this minireview is to provide an overview of the proteomic technologies currently applied to studies of kidney and highlight a few applications of such approaches in kidney disease biomarker discovery.*

**Keywords:** proteomics, kidney disease, membranous nephropathy, chronic kidney disease, diabetic nephropathy, kidney transplantation

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thận là một trong những nguyên nhân gây tử vong gia tăng nhanh nhất trên toàn thế giới. Dựa trên nghiên cứu Gánh nặng bệnh tật toàn cầu (Global Burden of Disease - GBD), gần đây người ta ước tính với tốc độ phát triển hiện tại, bệnh thận mạn (Chronic Kidney Disease - CKD) sẽ trở thành nguyên nhân thứ hai gây tử vong ở Tây Ban Nha trong những thập kỷ tới, và điều này cũng tương tự các số liệu ước tính trên toàn thế giới [5]. Ghép thận là một lựa chọn tốt hơn, nhưng vẫn tồn tại một số vấn đề như tổn thương thận biểu hiện lâm sàng hoặc dưới ngưỡng lâm sàng do thải ghép hoặc độc tính trên thận. Chính vì thế, cần có những bước tiến mới, những cách tiếp cận mới trong chẩn đoán, phân tầng nguy cơ và điều trị bệnh thận để thay đổi xu hướng tỷ lệ tử vong do bệnh thận ngày càng

gia tăng hiện nay. Sinh học hệ thống (systems biology) mang đến hứa hẹn là một công cụ chẩn đoán, cải tiến phân tầng nguy cơ cho phép tiếp cận y học chính xác, cũng như khả năng phát hiện các cơ chế sinh bệnh học mới, đồng thời giúp xác định mục tiêu điều trị. Trong số các kỹ thuật sinh học hệ thống đa dạng, proteomics (ngành protein học) được xem là có liên quan đến ứng dụng lâm sàng thường quy trong thận học. Hiện nay, tiếp cận proteomics trong lâm sàng ở các khía cạnh khác nhau của thận học từ quan điểm chẩn đoán và phân tầng nguy cơ. Mục đích của bài này nhằm cung cấp một tổng quan về công nghệ proteomics hiện đang được áp dụng trong các nghiên cứu về thận và nhấn mạnh một số ứng dụng của proteomics trong việc khám phá dấu ấn sinh học ứng dụng trong lâm sàng đánh giá các bệnh lý thận.

## II. NỘI DUNG

### Tiếp cận proteomics trong đánh giá bệnh lý thận

#### *Viêm cầu thận màng (Membranous Nephropathy)*

Thụ thể phospholipase A(2) type M (M-type phospholipase A(2) receptor - PLA2R) được xác định minh họa cho tiềm năng phát hiện ra protein để cung cấp thông tin về bệnh học và hướng dẫn chẩn đoán và điều trị. Trên cơ sở mô bệnh học, bệnh thận màng nguyên phát từ lâu đã được công nhận là một bệnh cầu thận tự miễn qua trung gian kháng thể, nhưng kháng nguyên đích vẫn chưa được biết đến. Bằng kỹ thuật Western Blots, Beck và cộng sự đã thực hiện phương pháp chiết xuất protein từ cầu thận người bình thường với huyết thanh từ bệnh nhân mắc bệnh thận màng nguyên phát, từ bệnh nhân mắc bệnh thận màng thứ phát và từ bệnh nhân bình thường. Từ đó đã xác định được dải protein phản ứng 185 kDa đặc trưng cho bệnh cầu thận màng nguyên phát. Sau đó, áp dụng phương pháp sắc ký lỏng - khối phổ cho dải protein phản ứng để phát hiện PLA2R. Hơn nữa, kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng PLA2R được biểu hiện trên các tế bào podocyte ở những quả thận khỏe mạnh và các kháng thể đối với PLA2R được tìm thấy trong lắng đọng miễn dịch cầu thận của những bệnh nhân mắc bệnh cầu thận màng nguyên phát [1]. Với cách tiếp cận tương tự, thực hiện Western blots sau sắc ký lỏng - khối phổ, đã được sử dụng để xác định vùng thrombospondin type-1 domain-containing 7A (THSD7A) như một kháng nguyên đích bổ sung cho các tự kháng thể ở một số bệnh nhân bệnh cầu thận màng có anti-PLA2R âm tính. Kể từ những phát hiện mang tính bước ngoặt này, các tự kháng thể đối với PLA2R đã được tìm thấy chiếm khoảng 70% - 80% các trường hợp bệnh cầu thận màng nguyên phát, với các tự kháng thể đối với THSD7A chiếm một tỷ lệ nhỏ hơn nhiều [4]. Những khám phá này đã thay đổi việc chăm sóc lâm sàng vì nồng độ tự kháng thể trong huyết thanh được tìm thấy có tương quan với mức độ hoạt động của bệnh cầu thận màng và đáp ứng với thuốc ức chế miễn dịch [2], [7]. Một nghiên cứu gần đây đã áp dụng proteomics dựa trên sắc ký lỏng - khối phổ phân tích huyết thanh của những bệnh nhân mắc bệnh cầu thận màng vô căn đã hoặc không thuyên giảm hoàn toàn khi dùng thuốc ức chế calcineurin và xác định protein amyloid A1 trong huyết thanh là một dấu ấn sinh học tiềm năng hàng đầu giúp tiên lượng mức độ kháng thể PLA2R.

#### *Dự đoán tần suất mắc mới và tiên lượng bệnh thận mạn (Chronic Kidney Disease)*

Trong ví dụ trên về bệnh cầu thận màng, cho thấy cách khám phá protein có thể tập trung vào một hoặc hai loại protein cụ thể, các nghiên cứu khác đã xem xét một loạt các phân tử rộng hơn. Mischak và các cộng sự đã xác nhận giá trị của việc kết hợp nhiều dấu ấn sinh học peptide hoặc protein, dựa trên giả thiết rằng các dấu ấn sinh học riêng lẻ có độ biến thiên cao sẽ hạn chế độ chính xác. Sử dụng phương pháp điện di mao mạch, các nhà nghiên

cứu đã so sánh nước tiểu của 230 bệnh nhân với hàng loạt các nguyên nhân bệnh thận mạn và 379 người thuộc nhóm chứng có chức năng thận bình thường. Kết quả phân tích cho thấy kết hợp 273 peptit trong nước tiểu thành một dấu hiệu peptit tổng hợp được gọi là CKD273, có giá trị khác nhau giữa bệnh thận mạn và nhóm chứng khỏe mạnh [6]. Các nghiên cứu tiếp theo từ hàng nghìn mẫu bệnh phẩm cho thấy CKD273 có thể có ứng dụng tốt hơn các chỉ số chuẩn khác trong phát hiện và dự đoán CKD. Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ đã khuyến khích các nghiên cứu sâu hơn với CKD273 như một dấu ấn sinh học trong các thử nghiệm lâm sàng giai đoạn đầu "để xác định lợi ích lâm sàng của nó trong việc tiên lượng, định hướng phát triển thuốc và cân nhắc thiết kế nghiên cứu". Tuy nhiên, cần lưu ý rằng CKD273 dường như không có giá trị cao trong dự đoán tiến triển bệnh thận mạn giai đoạn cuối hoặc khi creatinine huyết thanh tăng gấp đôi ở những bệnh nhân mắc bệnh tiến triển nặng hơn.

Các thành phần chính của CKD273 bao gồm các mảnh collagen, có lẽ là dấu hiệu của sự tích tụ chất nền ngoại bào trong ống thận, cùng với các mảnh protein có nguồn gốc từ máu liên quan đến quá trình viêm. Đặc biệt, tình trạng viêm mạn tính được xem như là một dấu hiệu nguy cơ và yếu tố căn nguyên tiềm ẩn trong sự tiến triển của bệnh thận do đái tháo đường. Ví dụ, Niewczas và các cộng sự đã nhấn mạnh mối liên quan chặt chẽ giữa các thụ thể TNF 1 và 2 (TNF-R1 và TNF-R2) đang lưu hành và nguy cơ mắc bệnh thận mạn giai đoạn cuối do bệnh thận đái tháo đường [9]. Để đánh giá toàn diện hơn tình trạng viêm trong bệnh thận do đái tháo đường, các nhà nghiên cứu này gần đây đã sử dụng phương pháp tiếp cận dựa trên aptamer (một đoạn ADN hoặc ARN hoặc peptide có khả năng liên kết với một phân tử đích một cách đặc hiệu và có ái lực cao) để đánh giá panel gồm 194 protein. Hầu hết đây là các protein gây viêm lưu hành đã được biết trong y văn và là các protein đã được nghiên cứu trước đây trong bệnh thận đái tháo đường. Kết quả phân tích được thực hiện trên 219 đối tượng mắc đái tháo đường type 1 và 144 đối tượng mắc bệnh đái tháo đường type 2 trong nghiên cứu thận Joslin và mở rộng ra trên 162 đối tượng mắc đái tháo đường type 2 trong Nghiên cứu Pima của Ấn Độ. Nghiên cứu này đã xác định dấu hiệu nguy cơ viêm tại thận (Kidney Risk Inflammatory Signature - KRIS) bao gồm 17 protein gây viêm, làm phong phú thêm cho họ TNF-R, có liên quan chặt chẽ với nguy cơ mắc bệnh thận mạn giai đoạn cuối trong vòng 10 năm. Các nhà nghiên cứu cũng đánh giá protein KRIS trong nước tiểu từ một phân tích bệnh chứng nhỏ về sự suy giảm nhanh độ lọc cầu thận và nhận thấy rằng hầu hết các trường hợp đều tăng và không có trường hợp nào giảm. Hơn nữa, không tìm thấy mối tương quan nào đáng kể giữa phần lớn nồng độ protein KRIS lưu hành và biểu hiện gen tương ứng trong các mẫu sinh thiết thận thu được từ 56 người da đỏ Pima. Trên cơ sở những phân tích này, các tác giả cho rằng các nguồn gốc không từ thận (nonkidney), chẳng hạn như bạch cầu, đóng một vai trò quan trọng trong việc tạo ra các protein KRIS trong hệ thống tuần hoàn và có lẽ là nguyên nhân gây bệnh thận đái tháo đường.

#### *Đánh giá tổn thương thận sau ghép thận*

Hiện nay, các chiến lược để theo dõi sau ghép thận chủ yếu dựa vào creatinin huyết thanh, protein niệu và xét nghiệm mô bệnh học thận ghép. Tuy nhiên, các thông số này trên lâm sàng có những hạn chế riêng và chưa đáp ứng được yêu cầu là phương pháp nghiên cứu nhạy hơn trong đánh giá căn nguyên bệnh một cách cụ thể nhằm giúp đưa ra quyết định điều trị và cải thiện kết cục lâm sàng. Gần đây, việc phát triển các dấu ấn sinh học dựa trên gen và protein trong máu và/hoặc nước tiểu để đánh giá các bệnh thận gốc cũng như thận ghép [3]. Chắc chắn rằng những dấu ấn sinh học này sẽ có tiềm năng cách mạng hóa việc phát hiện sớm, theo dõi tiến trình bệnh cũng như đáp ứng điều trị. Ứng dụng phân loại phân tử

dựa trên mô học đã được chứng minh trong đánh giá thải ghép tế bào T cấp tính hay mạn tính và thải ghép qua trung gian kháng thể của thận ghép.

Cho đến nay, hầu hết các nghiên cứu được thực hiện trên các mẫu mô cố định bằng formalin và vùi paraffin (*formalin fixed paraffin embedded - FFPE*) đều tập trung vào phân tích gen và phiên mã [8]. Mặc dù các nghiên cứu dựa trên DNA và RNA này có khả năng cung cấp một số thông tin nhất định, tuy nhiên, việc sử dụng axit nucleic bị hạn chế vì đôi khi mẫu mô FFPE không được bảo quản tốt. Trong khi đó, protein trong mẫu mô FFPE là vật liệu tuyệt vời để phân tích proteomics dựa trên khối phổ.

Trong một nghiên cứu thăm dò nhỏ, các mẫu mô từ ba kiểu hình khác nhau bao gồm thải ghép qua trung gian tế bào T (T-cell mediated rejection – TCMR), bệnh thận nhiễm BK virus (BK polyomavirus nephropathy – BKPyVN) và mô thận khỏe (stable kidney tissue – STA), được phân tích để tìm các dấu ấn sinh học proteomics có thể phân biệt các kiểu hình này. Điều này rất quan trọng trên lâm sàng vì biểu hiện mô bệnh học của TCMR và BKPyVN có thể giống nhau, tuy nhiên, chiến lược điều trị hai bệnh lý trên lại khá khác nhau (tăng hoặc giảm thuốc ức chế miễn dịch). Phân tích proteomics trong nghiên cứu này thực hiện trên các mẫu sinh thiết FFPE đã định lượng được 2798 protein. Trong số các protein này, mức độ biểu hiện của 638 protein liên quan TCMR và 740 protein liên quan BKPyVN đã thay đổi đáng kể so với các mẫu STA. Ngoài ra, khi so sánh các protein trong các mẫu sinh thiết do TCMR và BKPyVN cho thấy có 218 protein có những thay đổi đáng kể trong biểu hiện protein giữa hai loại kiểu hình bệnh này.

### III. HƯỚNG PHÁT TRIỂN TƯƠNG LAI

Mặc dù đã có nhiều tiến bộ nhưng vẫn còn một số khía cạnh cần thiết để khai thác tiềm năng của proteomics trong nghiên cứu về bệnh thận. Viện nghiên cứu Quốc gia về bệnh đái tháo đường, tiêu hóa và bệnh thận (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases - NIDDK), Hiệp hội Dấu ấn sinh học CKD ([www.ckdbiomarkersconsortium.org](http://www.ckdbiomarkersconsortium.org)) đang tích cực tạo ra dữ liệu protein trong máu từ 3.000 người mắc bệnh thận mạn, bao gồm một số nhóm nghiên cứu đoàn hệ khác nhau, kể cả người lớn và trẻ em.

Ngay cả khi các nghiên cứu về proteomics trong bệnh thận tiếp tục được mở rộng, các cơ hội nghiên cứu các vấn đề mới quan trọng vẫn còn. Dự án Y học chính xác về thận của NIDDK ([www.kpmp.org](http://www.kpmp.org)) được dự đoán sẽ cung cấp các mô thận của con người, rất cần cho nghiên cứu dấu ấn sinh học. Những tiến bộ gần đây trong việc xác định các biến đổi sau dịch mã của protein giúp hiểu rõ hơn về proteome trong bệnh thận. Song song đó, việc tích hợp genomics với proteomics có thể cho phép các phương pháp tiếp cận dựa trên quy luật ngẫu nhiên Mendel để kiểm tra xem liệu các dấu ấn chọn lọc đó có thuộc nguyên nhân – hậu quả hay không. Để làm tốt điều này, đòi hỏi sự hợp tác chặt chẽ giữa các ngành nghiên cứu, kết hợp với nhau khám phá về genome trong nghiên cứu thận học để nâng cao hơn nữa cách tiếp cận hiểu biết và điều trị đối với bệnh thận.

### IV. KẾT LUẬN

Dấu ấn sinh học có khả năng đơn giản hóa việc chẩn đoán và điều trị bệnh nhân mắc các dạng bệnh thận khác nhau. Công nghệ proteomic đã cung cấp cho các nhà sinh lý thận học và các bác sĩ lâm sàng những công cụ mới mạnh mẽ hơn để hiểu các cơ chế sinh lý cũng như các cơ chế bệnh sinh tại thận.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, Klein JB, Salant DJ (2009), M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy, *N Engl J Med*, 361, 11–21.
2. Bomback AS (2018), Management of membranous nephropathy in the PLA2R Era. *Clin J Am Soc Nephrol*, 13, 784–786.
3. Chakraborty A, Sarwal M (2018), Protein biomarkers in renal transplantation, *Expert Rev. Proteomics*, 15, 41.
4. Couser WG (2017), Primary membranous nephropathy, *Clin J Am Soc Nephrol*, 12, 983–997.
5. Global Burden of Disease 2016 (2017), Causes of Death Collaborators, *Lancet*, 390, 1151.
6. Good DM, Zúñiga P, Argilés A, Bauer HW, Behrens G, Coon JJ, Dakna M, Decramer S, Delles C, Dominiczak AF, Ehrlich JH, Eitner F, Fliser D, Frommberger M, Ganser A, Girolami MA, Golovko I, Gwinner W, Haubitz M, Herget-Rosenthal S, Jankowski J, Jahn H, Jerums G, Julian BA, Kellmann M, Kliem V, Kolch W, Krolewski AS, Luppi M, Massy Z, Melter M, Neusuß C, Novak J, Peter K, Rossing K, Rupperecht H, Schanstra JP, Schiffer E, Stolzenburg JU, Tarnow L, Theodorescu D, Thongboonkerd V, Vanholder R, Weissinger EM, Mischak H, Schmitt-Kopplin P (2010), Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease, *Mol Cell Proteomics*, 9: 2424–2437.
7. Hoxha E, Thiele I, Zahner G, Panzer U, Harendza S, Stahl RA (2014), Phospholipase A2 receptor autoantibodies and clinical outcome in patients with primary membranous nephropathy, *J Am Soc Nephrol*, 25, 1357–1366.
8. Liu P, Tseng G, Wang Z, Huang Y, Randhawa P (2019), Diagnosis of T-cell-mediated kidney rejection in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues using RNA-Seq-based machine learning algorithms, *Hum Pathol*;84:283-290.
9. Niewczas MA, Gohda T, Skupien J, Smiles AM, Walker WH, Rosetti F, Cullere X, Eckfeldt JH, Doria A, Mayadas TN, Warram JH, Krolewski AS (2012), Circulating TNF receptors 1 and 2 predict ESRD in type 2 diabetes, *J Am Soc Nephrol*, 23, 507–515.
10. Niewczas MA, Pavkov ME, Skupien J, Smiles A, Md Dom ZI, Wilson JM, Park J, Nair V, Schlafly A, Saulnier PJ, Satake E, Simeone CA, Shah H, Qiu C, Looker HC, Fiorina P, Ware CF, Sun JK, Doria A, Kretzler M, Susztak K, Duffin KL, Nelson RG, Krolewski AS (2019), A signature of circulating inflammatory proteins and development of end-stage renal disease in diabetes, *Nat Med*, 25, 805–813.

(Ngày nhận bài: 28/10/2021 – Ngày duyệt đăng: 17/11/2021)

---