

**ПРИХОДИНА**

**Лариса Серафимовна**

**КЛИНИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ  
ПРОГРЕССИРОВАНИЯ  
СТЕРОИД-РЕЗИСТЕНТНОГО НЕФРОТИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ  
И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ**

**14.01.08 - Педиатрия**

**03.02.07 - Генетика**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени**

**доктора медицинских наук**

**Москва – 2012**

Работа выполнена в ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт педиатрии и детской хирургии» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации и ФГБУ «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук

**Научные консультанты:**

Заслуженный врач Российской Федерации,  
доктор медицинских наук, профессор **ДЛИН Владимир Викторович**

доктор биологических наук, профессор **ПОЛЯКОВ Александр Владимирович**

**Официальные оппоненты:**

**ПАУНОВА Светлана Стояновна**, доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Минздравсоцразвития России, кафедра детских болезней лечебного факультета, заведующая

**ЦЫГИН Алексей Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Научный центр здоровья детей» Российской академии медицинских наук, нефрологическое отделение, руководитель

**НОВИКОВ Петр Васильевич**, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России, отделение психоневрологии и наследственных заболеваний с нарушением психики, заведующий

**Ведущая организация:**

ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздравсоцразвития России

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2012 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д-208.043.01 в ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России (125412, г. Москва, улица Талдомская, дом 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2012 г.

**Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук**

**Землянская Зинаида  
Константиновна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Предупреждение прогрессирования хронических болезней почек (ХБП) и поиск эффективных превентивных терапевтических подходов являются острой медико-социальной проблемой, относящейся к приоритетам национальных систем здравоохранения большинства стран мира [Игнатова М.С., 2011; National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives, 2002].

По данным эпидемиологических исследований, ежегодная заболеваемость нефротическим синдромом составляет 2-7 случаев на 100 000 детей, кумулятивная распространенность - 12-16 на 100 000 детского населения [Eddy A.A. et al., 2003]. Стероид-резистентный нефротический синдром (СРНС) наблюдается у 10–20% детей с нефротическим синдромом [McKinney P.A. et al., 2001]. Проблемы прогрессирования СРНС у детей остаются одними из актуальных вопросов в мировой педиатрической нефрологии, что определяется высокой частотой развития хронической почечной недостаточности (ХПН), отмечаемой более чем у 50% пациентов в течение 5-10 лет [Ehrich J.H.H. et al., 2007]. По данным международных регистров, СРНС составляет 15-29% в структуре терминальной ХПН у детей, являясь ведущим приобретенным заболеванием почек [McTaggart S. et al., 2009; Lewis M.A. et al., 2009; ESPN/ERA-EDTA Registry, 2010].

Изучение закономерностей прогрессирования СРНС у детей приобретает особую значимость в связи с высоким риском возврата заболевания после трансплантации почки с последующей потерей трансплантата у 50-80% пациентов [Nathanson S. et al., 2005]. Учитывая отмечаемое увеличение частоты СРНС с фокально-сегментарным гломерулосклерозом (ФСГС) у детей [Chesney R. et al., 2004; Del Rio M. et al., 2008; Banaszak B. et al., 2012], с клинических позиций чрезвычайно важным является поиск клинических и морфологических предикторов неблагоприятного почечного исхода, позволяющих прогнозировать течение заболевания с индивидуальной оценкой риска развития ХПН.

Исследования в области молекулярной генетики продемонстрировали генетическую гетерогенность СРНС, обусловленную мутациями в генах щелевой диафрагмы и подоцитарного цитоскелета гломерул: *NPHS1*, *NPHS2*, *ACTN4*, *CD2AP*, *TRPC6*, *PLCE1*, *INF2*, *MYO1E* [Kestila M. et al., 1998; Boute N. et al., 2000; Kaplan J.M. et al., 2000; Kim J.M. et al., 2003; Winn M.P. et al., 2005; Hinkes B. et al., 2006; Brown E.J. et al., 2010; Mele C. et al., 2011]. Учитывая увеличивающееся количество идентифицированных в последние годы генов-кандидатов, мутации которых ответственны за развитие СРНС у детей,

представляется актуальным изучение потенциальных ассоциаций мутаций и аллельного полиморфизма подоцитарных генов с клиническими проявлениями, морфологическими вариантами патологии, а также с прогрессированием заболевания и эффективностью иммуносупрессивной терапии.

Важную роль в патогенезе прогрессирования ХБП играет ренин-ангиотензиновая система и основной ее компонент – ангиотензин II, активность которого в значительной степени определяется генами *ACE (I/D)*, *AGT (M235T)* и *AGTR1 (A1166C)*. Основными патофизиологическими проявлениями активации ангиотензина II являются системная артериальная гипертензия (АГ) с интрагломерулярной гипертензией и гиперфльтрацией, что приводит к протеинурии, развитию гломерулосклероза и интерстициального фиброза [Vaughan D.E. et al., 1995; Taal M.W. et al., 2000; Sethi A.A. et al., 2003]. В последние годы проводится поиск потенциальных ассоциаций полиморфных аллелей генов ренин-ангиотензиновой системы и эндотелиальной дисфункции с предрасположенностью к прогрессированию нефротического синдрома у детей [Шарнова Ж.П. и др., 2007; Zhou T.V. et al., 2011]. Однако результаты проведенных исследований достаточно противоречивы, а исследования генетических ассоциаций с прогрессированием СРНС немногочисленны, что явилось обоснованием для изучения роли аллельного полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы и эндотелиальной дисфункции с предрасположенностью к прогрессированию СРНС у детей.

Достижение ремиссии СРНС, индуцируемой иммуносупрессивной терапией, является предиктором благоприятного почечного исхода заболевания [Cattran D.C. et al., 1998; Ehrich J.H.H. et al., 2007]. В этом аспекте чрезвычайно важным является поиск эффективной патогенетической иммуносупрессивной терапии различных морфологических вариантов СРНС у детей. В научной литературе недостаточно освещены клинические и морфологические предикторы отсутствия эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со СРНС, изучение которых представляет несомненный научный интерес и определяет клиническую значимость.

Таким образом, актуальной проблемой современной медицины является комплексное изучение закономерностей прогрессирования СРНС у детей с оценкой вклада клинических, морфологических и генетических факторов риска, что позволит прогнозировать течение заболевания с учетом индивидуальной генетической предрасположенности пациентов и оптимизировать тактику иммуносупрессивной терапии, направленной на предупреждение развития ХПН.

**Цель исследования.** Определение закономерностей прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей на основе клинических и морфологических характеристик патологии, мутаций и аллельного полиморфизма генов - кандидатов для разработки системы индивидуального прогнозирования течения заболевания и обоснования эффективной терапии.

**Задачи исследования:**

1. Определить клинические и морфологические предикторы неблагоприятного почечного исхода и разработать алгоритм, определяющий индивидуальный риск прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей.
2. Установить частоту мутаций и ассоциации полиморфных аллелей подоцитарных генов *NPHS2*, *NPHS1* и *TRPC6* с развитием и прогрессированием стероид-резистентного нефротического синдрома у детей и с эффективностью иммуносупрессивной терапии 1-й линии.
3. Выявить полиморфные аллели генов ренин-ангиотензиновой системы - *ACE (I/D)*, *AGT (M235T)*, *AGTR1 (A1166C)* и генов эндотелиальной дисфункции - *eNOS (4a/4b)*, *PAI-1 (4G/5G)*, *MTHFR (C677T)*, ассоциированные с предрасположенностью к прогрессированию стероид-резистентного нефротического синдрома у детей.
4. Оценить сравнительную эффективность иммуносупрессивной терапии циклофосфаном внутривенно, циклоспорином А, микофенолатом мофетила и такролимусом в зависимости от морфологических вариантов стероид-резистентного нефротического синдрома у детей.
5. Определить клинические и морфологические предикторы отсутствия эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом.
6. Оценить эффективность гипотензивной терапии ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента в зависимости от аллельного полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы - *ACE (I/D)*, *AGT (M235T)*, *AGTR1 (A1166C)* у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом.

**Научная новизна.** Сформулирована патогенетически обоснованная концепция прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей, определяемая преимущественным вкладом фокально-сегментарного гломерулосклероза, ассоциированного с аллельным полиморфизмом подоцитарных генов и генов ренин-ангиотензиновой системы, а также значимым влиянием эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии.

Впервые в педиатрии с использованием подходов доказательной медицины систематизированы известные и выделены новые информативные клинические и морфологические предикторы неблагоприятного почечного исхода, на основании которых разработан алгоритм индивидуального прогноза, позволивший количественно оценить вероятность прогрессирующего течения стероид-резистентного нефротического синдрома у детей.

Показано, что риск прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома ассоциирован с малой массой тела при рождении (менее 2500 г) детей и обусловлен развитием фокально-сегментарного гломерулосклероза и отсутствием эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии.

Установлена низкая частота мутаций в подоцитарных генах *NPHS2*, *NPHS1* и *TRPC6*, что не позволяет рассматривать данные гены в качестве основных генов - кандидатов, участвующих в развитии стероид-резистентного нефротического синдрома у детей обследованной выборки.

Впервые в нефрологии показано, что риск развития стероид-резистентного нефротического синдрома у детей ассоциирован с комбинацией из 3-х полиморфных аллелей гена *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*), что свидетельствует о генетической предрасположенности к развитию заболевания.

Получены новые данные, свидетельствующие о повышенном риске развития фокально-сегментарного гломерулосклероза у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом при наличии дигенного носительства полиморфных аллелей подоцитарных генов *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*) и *NPHS1* (*c.349G>A*, *c.1223G>A*), а также генотипа *T/T* гена *AGT* (*M235T*).

Установлено, что риск прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей не ассоциирован с отдельными полиморфными аллелями подоцитарных генов: *NPHS2* (*c.873+7A>G*), *NPHS1* (*c.349G>A*, *c.791C>G*), *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.43C>T*).

Определены клинические и морфологические предикторы отсутствия эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом.

Эффективность иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом не зависит от аллельного полиморфизма подоцитарных генов: *NPHS2* (*c.873+7A>G*), *NPHS1* (*c.349G>A*), *TRPC6* (*c.1683T>C*), а также их генотипических комбинаций и дигенного носительства.

**Практическая значимость.** Разработан алгоритм прогнозирования течения стероид-резистентного нефротического синдрома у детей, защищенный патентом Российской Федерации, который основан на выявлении клинических и морфологических предикторов прогрессирования заболевания и позволяет с высокой вероятностью определять индивидуальный риск развития хронической почечной недостаточности.

Показана целесообразность выявления малой массы тела при рождении (менее 2500 г) у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом для прогнозирования риска прогрессирования заболевания с быстрыми темпами снижения почечных функций в год, развитием фокально-сегментарного гломерулосклероза и отсутствием эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии.

Установлена возможность раннего прогнозирования развития стероид-резистентного нефротического синдрома у детей при определении комбинации из 3-х полиморфных аллелей гена *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*), что является важным до подтверждения резистентности к стероидной терапии.

Продемонстрирована целесообразность определения дигенного носительства полиморфных аллелей подоцитарных генов *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*) и *NPHS1* (*c.349G>A*, *c.1223G>A*) и генотипа *T/T* гена *AGT* (*M235T*) для прогнозирования развития фокально-сегментарного гломерулосклероза у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом.

Обосновано включение в обследование пациентов со стероид-резистентным нефротическим синдромом определение аллельного полиморфизма гена *ACE* (*I/D*) для прогнозирования развития артериальной гипертензии и выраженной протеинурии более 5 г/1,73м<sup>2</sup>/24ч, являющихся независимыми клиническими предикторами неблагоприятного почечного исхода заболевания.

Своевременное назначение патогенетической иммуносупрессивной терапии стероид-резистентного нефротического синдрома у детей после подтверждения стероидной резистентности и определения морфологического варианта патологии существенно повышает вероятность развития ремиссии заболевания, что способствует улучшению исхода болезни и снижению инвалидизации пациентов.

Определение аллельного полиморфизма гена *AGT* (*M235T*) позволяет прогнозировать эффективность гипотензивной терапии ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом, что дает возможность индивидуализировать лечение больных в зависимости от данных генетического тестирования.

### Основные положения, выносимые на защиту

1. Разработанная система прогнозирования риска прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей включает 13 клинических и 7 морфологических предикторов неблагоприятного почечного исхода с оценкой суммарного вклада значений каждого из них и позволяет с 95% вероятностью выявлять пациентов с высоким риском развития хронической почечной недостаточности.
2. Риск развития стероид-резистентного нефротического синдрома у детей ассоциирован с комбинацией из 3-х полиморфных аллелей гена *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*), что свидетельствует о генетической предрасположенности к формированию заболевания.
3. В основе патогенетических механизмов прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей ключевая роль принадлежит фокально-сегментарному гломерулосклерозу, развитие которого ассоциировано с дигенным носительством полиморфных аллелей подоцитарных генов *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*) и *NPHS1* (*c.349G>A*, *c.1223G>A*), а также с генотипом *T/T* гена *AGT* (*M235T*).
4. Прогрессирование стероид-резистентного нефротического синдрома у детей не ассоциировано с отдельными полиморфными аллелями подоцитарных генов: *NPHS2* (*c.873+7A>G*), *NPHS1* (*c.349G>A*, *c.791C>G*), *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.43C>T*).
5. Риск развития артериальной гипертензии и выраженной протеинурии более 5 г/1,73<sup>м2</sup>/24ч у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом ассоциирован с генотипом *D/D* гена *ACE* (*I/D*), который рассматривается в качестве маркера предрасположенности к развитию клинических предикторов неблагоприятного почечного исхода.
6. Эффективность иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом не ассоциирована с отдельными полиморфными аллелями подоцитарных генов: *NPHS2* (*c.873+7A>G*), *NPHS1* (*c.349G>A*), *TRPC6* (*c.1683T>C*).

**Решение поставленных задач** осуществлялось в отделении наследственных и приобретенных болезней почек (руководитель – доктор медицинских наук, профессор Длин В.В.) ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России (директор - доктор медицинских наук, профессор Царегородцев А.Д.) и в лаборатории ДНК - диагностики (руководитель - доктор биологических наук, профессор Поляков А.В.)



ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН (директор - академик РАМН, доктор биологических наук, профессор Гинтер Е.К.).

**Внедрение в практику.** Результаты диссертационной работы внедрены в клиническую практику нефрологических отделений ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России и Тушинской детской городской больницы, используются в материалах лекций и практических занятий для студентов, интернов и ординаторов ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Минздравсоцразвития России и ординаторов ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России.

По результатам исследований получен патент РФ на изобретение «Способ прогнозирования прогрессирующего течения стероид-резистентного нефротического синдрома при гломерулонефрите у детей» № 2414852 (зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 27 марта 2011 г.).

Получено разрешение на применение новой медицинской технологии «Прогнозирование течения стероид-резистентного нефротического синдрома у детей на основании полиморфных вариантов гена ингибитора активатора плазминогена-1» ФС № 2011/034 от 11 марта 2011 г.

**Апробация материалов диссертации.** Результаты исследования и основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X Российских Конгрессах «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011); Всемирных Конгрессах нефрологов (Берлин, Германия, 2003; Сингапур, 2005; Милан, Италия, 2009); Конгрессах Международной ассоциации педиатров-нефрологов (Будапешт, Венгрия, 2007; Нью-Йорк, США, 2010), Конгрессах Европейского общества педиатров-нефрологов (Стамбул, Турция, 2005; Палермо, Италия, 2006; Лион, Франция, 2008; Бирмингем, Великобритания, 2009; Дубровник, Хорватия, 2011), Конгрессах Европейской нефрологической ассоциации и Европейского общества диализа и трансплантации (ERA-EDTA) (Стамбул, Турция, 2005; Париж, Франция, 2012), V, VI, XI Российских конгрессах детских нефрологов (Воронеж, 2006; Москва, 2007, 2011), V, VI, VII Конференциях Российского диализного общества (Москва, 2009, 2010, 2011), VI, VII Съездах научного общества нефрологов России (Москва, 2005, 2010), XIV, XV, XVI Российских Национальных Конгрессах «Человек и лекарство» (2007; 2008; 2009), Международной школе по детской нефрологии (Оренбург, 2010), V Съезде Российского общества медицинских генетиков (Уфа, 2005), заседаниях нефрологической секции московского общества детских врачей (2006; 2007),

научных конференциях ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России (2005; 2007; 2008; 2009; 2011).

Работа отмечена поощрительными грантами Всемирных Конгрессов нефрологов (Сингапур, 2005; Милан, Италия, 2009); Конгресса Международной ассоциации педиатров-нефрологов (IPNA) (Будапешт, Венгрия, 2007), Конгресса Европейского общества педиатров-нефрологов (ESPN) (Стамбул, Турция, 2005), Европейской нефрологической ассоциации и Европейского общества диализа и трансплантации (ERA-EDTA) (2006), VII Конференции Российского диализного общества (Москва, 2011).

**Публикации по теме работы.** По теме диссертации опубликовано 75 работ в отечественной и зарубежной печати, включая 2 монографии, 8 глав в монографиях и руководствах, 11 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ.

**Объем и структура диссертации.** Работа изложена на 375 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 4-х глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Диссертация иллюстрирована 144 таблицами и 118 рисунками. Указатель литературы содержит 450 работ, включая 12 отечественных и 438 иностранных источников.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Клиническая характеристика обследованных больных**

Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование и морфологическое исследование нефробиоптатов 120 из 162 детей из различных регионов России в возрасте от 1 до 18 лет со СРНС, наблюдавшихся в отделении наследственных и приобретенных болезней почек ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России с 1996 по 2011 годы. Диагноз СРНС ставился на основании общепринятых клинических критериев в виде сохраняющейся протеинурии после 6-8 недель стероидной терапии преднизолоном в дозе 2 мг/кг/24ч (максимум 60 мг/24ч) [International Study of Kidney Disease in Children, 1981]. Выборка пациентов в исследование проводилась в соответствии с критериями включения: первичный, морфологически подтвержденный СРНС; возраст пациентов при манифестации заболевания от 1 до 17 лет; длительность катамнестического наблюдения – не менее 12 месяцев. Критериями исключения пациентов из исследования являлись: врожденный и инфантильный нефротический синдром, а также семейный, поздний и вторичный СРНС, связанный с генетическими синдромами, хромосомными aberrациями, болезнями соединительной ткани, васкулитами. В соответствии с представленными критериями в исследование не

включались 42 пациента со СРНС в составе наследственных синдромом Фрайзера, Денис-Драш, Шимке, Галловой-Моват, Коккейна, Секкеля, а также с вторичным СРНС при системной красной волчанке, геморрагическом васкулите, тромботической микроангиопатии.

Распределение больных со СРНС по полу и возрасту к моменту первого обследования представлено в таблице 1. Более половины (69,2%) обследованных детей составили пациенты школьного возраста от 7 до 15 лет.

**Таблица 1.**

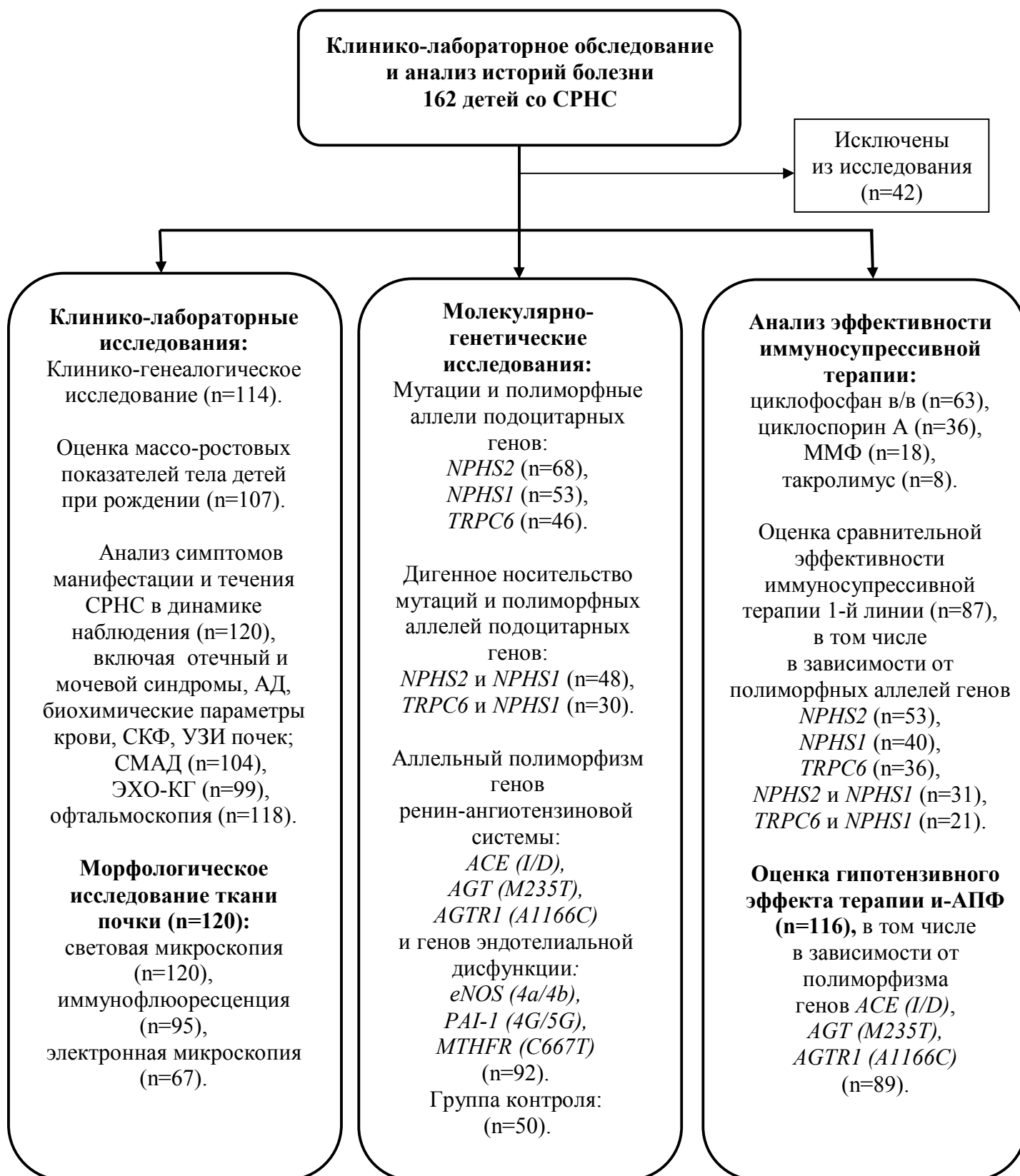
**Распределение обследованных детей со СРНС по возрасту и полу (n=120)**

Параметры (n/%)	Ранний возраст (1 – 3 года)	Дошкольный возраст (4 – 6 лет)	Младший школьный возраст (7 – 11 лет)	Старший школьный возраст (12 – 15 лет)	Подростковый возраст (16 – 18 лет)	Всего
Мальчики	4 (3,3%)	9 (7,5%)	17 (14,2%)	17 (14,2%)	5 (4,2%)	52 (43,3%)
Девочки	7 (5,8%)	8 (6,7%)	24 (20%)	25 (20,8%)	4 (3,3%)	68 (56,7%)
Итого	11 (9,2%)	17 (14,2%)	41 (34,2%)	42 (35%)	9 (7,5%)	120 (100%)

Манифестация заболевания отмечалась у детей в возрасте 9,5 (5,3; 13,0) лет. При манифестации у 30,8% больных отмечалось повышение уровня креатинина в крови более 100 мкмоль/л, что расценивалось как проявление активности заболевания, у 60,8% детей наблюдалась АГ, у 74,2% - микрогематурия различной степени выраженности.

На момент первого обследования детей в отделении наследственных и приобретенных болезней почек длительность СРНС составила 10,0 (4,0; 24,8) месяцев, отечный синдром отмечен у 51,7% больных, выраженная протеинурия более 5 г/1,73м<sup>2</sup>/24ч – у 36,7%, гипоальбуминемия менее 25 г/л - у 33,3%, гиперхолестеринемия более 6,7 ммоль/л – у 67,5%, АГ 1-й и 2-й степени – у 55,8% пациентов.

Структура организации клинико-лабораторного, морфологического, молекулярно-генетического исследований у 120 детей со СРНС представлена на рис. 1.



**Рис.1. Структура организации когортного одноцентрового исследования детей со СРНС.**

При морфологическом исследовании почечной ткани, проведенном у 120 пациентов со СРНС, выявлены следующие морфологические варианты: ФСГС - у 44,2% больных, мезангио-пролиферативный гломерулонефрит (МзПГН) - у 23,3%, мембрано-пролиферативный гломерулонефрит (МБПГН) - у 15,8%, нефротический синдром с минимальными изменениями (НСМИ) - у 11,7%, мембранозная нефропатия (МН) - у 5% детей.

Медиана значений скорости клубочковой фильтрации (СКФ) у больных со СРНС при первом обследовании в отделении наследственных и приобретенных болезней почек составляла 125,1 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>. У 82,5% пациентов отмечалась 1-я стадия ХБП со СКФ  $\geq 90$  мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, у 13,3% детей - 2-я стадия ХБП со СКФ 60-89 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, у 3,3% - 3-я стадия ХБП со СКФ 30-59 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> и у 0,8% больных - 4-я стадия ХБП со СКФ 29-15 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>. Медиана темпов изменений СКФ у пациентов со СРНС составляла 5,4 (-1,7; 14,6) мл/мин/1,73м<sup>2</sup> в год. В динамике наблюдения функциональное состояние почек оставалось стабильным у 31,6% детей, снижение СКФ менее 15 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> в год отмечено у 44,2% и снижение СКФ более 15 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> в год – у 24,2% больных.

Длительность СРНС к моменту последнего обследования больных составила 48,0 (28,2; 72,0) месяцев. Катамнестическое наблюдение за пациентами осуществлялось в течение 30,0 (18,0; 48,0) месяцев. Кумулятивная почечная выживаемость у детей со СРНС в динамике наблюдения снижалась: 5-летняя почечная выживаемость составляла 84% и 10-летняя - 60%, что подтверждает прогрессирующее течение заболевания.

Прогрессирующее течение СРНС у детей определялось при снижении СКФ менее 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> в течение 3-х и более месяцев, что соответствовало 3-й стадии ХБП согласно классификации Национального Почечного Фонда «Инициатива качества исходов болезней почек» (K/DOQI), принятой VII Российским конгрессом детских нефрологов России (2008) [National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives, 2002]. С целью определения клинических и морфологических предикторов прогрессирования СРНС выделены 2 группы пациентов – с прогрессирующим (n=26) и не прогрессирующим течением заболевания (n=94).

### **Объем и методы исследований**

**Общеклиническое обследование** детей со СРНС включало клинико-генеалогический анализ с составлением родословных пациентов, оценкой сведений о наличии заболеваний органов мочевой системы (ОМС) и АГ у родственников пробандов I и II степени родства. Особое внимание обращалось на течение беременности у матерей обследованных больных, выяснялась масса тела при рождении детей, уточнялось состояние здоровья в период новорожденности и раннем возрасте. В соответствии с

рекомендациями Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), малая масса тела при рождении детей определялась при значениях менее 2500 г, что обусловлено внутриутробной задержкой развития плода с массой тела при рождении менее 10 перцентили для гестационного возраста или недоношенностью [The Infant Health and Development Program, 1990].

У всех пациентов оценивались клинико-лабораторные особенности манифестации СРНС, включая выраженность протеинурии и гипоальбуминемии, функциональное состояние почек, наличие и выраженность экстраренальных проявлений заболевания. Большое внимание уделялось изучению анамнестических данных течения СРНС, режима дозирования и длительности стероидной терапии.

При клиническом обследовании пациентов со СРНС оценивалось физическое развитие детей с использованием центильных таблиц, рекомендованных ВОЗ [The WHO Multicentre Growth Reference Study, 2003]. Нормальная масса тела больных определялась при массо-ростовом индексе (МРИ)  $>5 < 85$  перцентили, избыточная масса - при повышении МРИ  $>85 < 95$  перцентили, ожирение - при МРИ  $\geq 95$  перцентили для соответствующего возраста и пола ребенка.

Всем пациентам со СРНС определяли уровень АД при 3-х кратном измерении аускультативным методом в зависимости от возраста, пола и роста ребенка: нормальное АД – при средних значениях систолического артериального давления (САД) и/или диастолического артериального давления (ДАД)  $< 90$  перцентили; высокое нормальное АД - при повышении средних значений САД и/или ДАД  $\geq 90$  и  $< 95$  перцентили, АГ - при повышении средних значений САД и/или ДАД  $> 95$  перцентили [National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents, 2004]. Выраженность АГ у обследованных детей со СРНС устанавливалась по стадиям: 1-я стадия – при АД  $> 95 < 99$  перцентили плюс 5 мм рт ст; 2-я стадия – при АД  $> 99$  перцентили плюс 5 мм рт ст [National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents, 2004]. Суточное мониторирование артериального давления (СМАД) проводилось осциллометрическим способом с оценкой средних значений САД и ДАД, индекса времени АД в течение дневного и ночного периодов суток и 24-часовой период, суточного индекса - степени ночного снижения АД (АВРМ-0,2/М «BPLab», Россия, «Медитех», Венгрия). Для обработки протоколов СМАД применялись компьютерные программы фирм-производителей («BPLab», Россия; «Медитех», Венгрия). Оценка данных СМАД производилась с использованием референсных значений для соответствующего возраста, пола и роста детей [Soergel M. et al., 1997].

В комплекс обязательных лабораторных исследований детей со СРНС в динамике наблюдения входили: клинический и биохимический анализы крови с определением уровня общего белка и белковых фракций, холестерина, триглицеридов, мочевины, креатинина (метод Яффе), мочевой кислоты, электролитов (калия, натрия, кальция, неорганического фосфора), билирубина, активности аланин-аминотрансферазы и аспартат-аминотрансферазы («Human», Германия). Проводилось исследование показателей гемостаза с определением уровня фибриногена, протромбина, фибринолитической активности. Исследовались общие и биохимические анализы мочи, определялась суточная экскреция белка с мочой («Biosystems BTS-330», Испания).

Функциональное состояние почек у пациентов со СРНС оценивалось с определением СКФ по формуле Шварца [Schwartz G.J. et al., 1987] с последующим распределением по стадиям ХБП в соответствии с классификацией *K/DOQI* [National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives, 2002]. Концентрационная способность почек больных со СРНС оценивалась в пробе по Зимницкому с определением удельного веса мочи, исследовалась осмолярность мочи. Функция ацидо-аммиогенеза определялась на основании показателей экскреции титруемых кислот, аммиака, рН мочи методом ацидометрического титрования. Исследования проводились в клинко-диагностической лаборатории (зав. - Аكوпова Т.В.) ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России. В качестве референсных значений показателей крови и мочи у детей использовались нормативы, рекомендованные Европейским обществом педиатров - нефрологов [Cochat P. et al., 2002].

Всем детям проводилось ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости и почек с оценкой размеров почек, кортико-медуллярной дифференцировки и эхогенности их паренхимы на аппаратах для ультразвукового сканирования Voluson-730 Expert, GE (США) (зав. отд. ультразвуковых методов исследования - кандидат медицинских наук Осипова Э.К.). В динамике наблюдения всем пациентам со СРНС осуществлялось электрокардиографическое исследование, по показаниям выполнялась эхокардиография на ультразвуковом сканере «Toshiba SSH-140A» (Япония).

Всем детям со СРНС была выполнена биопсия почечной ткани чрескожным пункционным методом под контролем УЗИ в отделении пересадки почки (зав. отд. – доктор медицинских наук, профессор Каабак М.М.) ФГБУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» РАМН (директор - доктор медицинских наук, профессор Дземешкевич С.Л.). Морфологическое исследование почечной ткани пациентов со СРНС с проведением световой и электронной микроскопии, а также иммунофлюоресценции нефробиоптатов проводилось доктором медицинских наук,

профессором Варшавским В.А. и кандидатом биологических наук Голицыной Е.П. на кафедре патологической анатомии (зав. - академик РАЕН, профессор, доктор медицинских наук Пауков В.С.) ГОУ Первый МГМУ им. И.М.Сеченова (доктор медицинских наук, профессор, ректор - член-корреспондент РАМН Глыбочко П.В.), а также кандидатом медицинских наук Невструевой В.В. в лаборатории общей патологии (руководитель - доктор медицинских наук, профессор Сухоруков В.С.) ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России. Морфологический диагноз устанавливался в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра для N.04 «Нефротический синдром» и рекомендациями Международного Общества патологии почек [Fogo A., 2003].

Оценка эффективности иммуносупрессивной терапии 1-й линии проведена у 87 пациентов со СРНС, включая использование циклофосфана внутривенно (в/в) в дозе 12,0 (10,0-13,3) мг/кг (максимум 1000 мг) на одно введение 1 раз в 4 недели, циклоспорина А - 5 мг/кг/24ч, микофенолата мофетила (ММФ) 25-35 мг/кг/24ч (максимум 2 г/24ч) и такролимуса - 0,1 мг/кг/24ч. Использование ММФ и такролимуса в терапии СРНС у детей разрешено этическим комитетом ФГБУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России.

Критерии оценки эффективности иммуносупрессивной терапии у детей со СРНС:

- Полная клинико-лабораторная ремиссия заболевания: отсутствие или снижение протеинурии <10 мг/кг/24ч и уровень альбумина в крови  $\geq 35$  г/л;
- Частичная клинико-лабораторная ремиссия заболевания: снижение протеинурии более чем на 50% и <1 г/24ч, уровень альбумина в крови >30 г/л;
- Без эффекта: персистирующая протеинурия нефротического уровня >3 г/24ч или >50 мг/кг/24ч и гипоальбуминемия <30 г/л.

При проведении иммуносупрессивной терапии с использованием ингибиторов кальцинейрина у пациентов со СРНС осуществлялась коррекция доз циклоспорина А и такролимуса в соответствии с концентрацией препаратов в крови (циклоспорин А - 90,0-180,0 нг/мл, такролимус - 5,0-10,0 нг/мл), определяемой методом моноклонального радиоиммуноанализа («AxSym», Abbot).

Определение эффективности гипотензивной терапии ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента (и-АПФ) выполнено у 116 детей со СРНС, в том числе проведен анализ эффективности в зависимости от полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы – *ACE (I/D)*, *AGT (M235T)*, *AGTR1 (A1166C)* у 89 пациентов. Критерием эффективности гипотензивной терапии и-АПФ у детей со СРНС являлось



снижение среднего суточного АД менее 50 перцентили для соответствующего возраста, пола и роста ребенка [Wuhl E. et al., 2008].

**Молекулярно-генетические методы исследования** у детей со СРНС использовались для идентификации мутаций и полиморфных аллелей 9 генов, которые условно выделены в 3 группы:

1) гены, кодирующие белки комплекса щелевой диафрагмы гломерул, участвующие в обеспечении структурно-функциональной деятельности гломерулярного фильтрационного барьера: *NPHS2* (подоцин) (n=68), *NPHS1* (нефрин) (n=53), ген *TRPC6* (*TRPC6*) (n=46);

2) гены, кодирующие компоненты ренин-ангиотензиновой системы (n=92): ангиотензин-превращающий фермент - *ACE* (*I/D*), ангиотензиноген - *AGT* (*M235T*), рецептор 1-го типа к ангиотензину II - *ATGR1* (*A1166C*);

3) гены компонентов, вовлеченных в патогенез эндотелиальной дисфункции (n=92): эндотелиальная синтаза оксида азота - *eNOS* (*4a/4b*), ингибитор активатора плазминогена 1-го типа – *PAI-1* (*4G/5G*), метилентетрагидрофолатредуктаза - *MTHFR* (*C677T*).

Контрольную группу для выявления мутаций и полиморфных аллелей исследуемых генов составили 50 клинически здоровых детей, соответствующих по полу и возрасту исследуемой выборке пациентов со СРНС, проживающих в различных регионах России.

В качестве материала для молекулярно-генетических исследований использована цельная венозная кровь больных со СРНС и детей контрольной группы, из лейкоцитов которой проводилось выделение геномной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) сорбентным методом [Boom R. et al., 1990] с использованием наборов реактивов по протоколу производителя («DIAtom<sup>TM</sup>, DNAPrep100», Россия). Амплификацию участков геномной ДНК, содержащих изучаемые полиморфизмы, проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на программируемом термоциклере MC2 («ДНК-технология», Россия) с использованием ДНК-полимеразы *Biotaq* («Биомастер», Россия) и реактивов («Sigma-Aldrich», США; «Serva», Германия; «Promega», США). Идентификацию полиморфных аллелей генов, обусловленных точечными нуклеотидными заменами, осуществляли с помощью методов анализа полиморфизма длин амплифицированных и рестрикционных фрагментов ПЦР-продукта [Schumm J.W. et al., 1988; Vos P. et al., 1995] согласно протоколам производителей («СибЭнзим», Россия; «Fermentas», Латвия). Продукты рестрикции анализировали с помощью электрофореза в 7% полиакриламидном геле. Фрагменты ДНК с измененной электрофоретической подвижностью подвергались прямому секвенированию по Сенгеру [Sanger F. et al., 1977] согласно протоколу производителя (ABI PRISM 3100, Applied Biosystem, США).

Характеристика исследованных аллельных полиморфизмов генов у детей со СРНС представлена в соответствии с генетическими базами: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), National Center for Biotechnology Information Single Nucleotide Polymorphism database (NCBI SNP) и Human Gene Mutation Database (HGMD) в таблице 2.

**Таблица 2.**

**Исследованные полиморфизмы генов у детей со СРНС**

<b>Ген (белок)</b>	<b>Локус (№ OMIM)</b>	<b>Полиморфизм гена</b>	<b>Кластерный номер (NCBI SNP, HGMD)</b>
<i>NPHS2</i> (подоцин)	1q25.2 (№ 604766)	<i>c.873+7A&gt;G</i>	rs115778946
<i>NPHS1</i> (нефрин)	19q13.1 (№ 602716)	<i>c.349G&gt;A</i>	rs3814995
		<i>c.791C&gt;G</i>	rs34982899
		<i>c.1175C&gt;T</i>	rs3432060
		<i>c.1223G&gt;A</i>	rs33950747
<i>TRPC6</i> (TRPC6)	11q22.1 (№ 603652)	<i>c.43C&gt;T</i>	rs3802829
		<i>c.1211C&gt;T</i>	rs36111323
		<i>c.1683T&gt;C</i>	rs12366144
Ангиотензин-превращающий фермент ( <i>ACE</i> )	17q23.3 (№ 106180)	<i>287 bp I/D</i>	rs4340
Ангиотензиноген ( <i>AGT</i> )	1q42-q43 (№ 106150)	<i>M235T</i>	rs699
Рецептор 1-го типа к ангиотензину II ( <i>AGTR1</i> )	3q24 (№ 106165)	<i>A1166C</i>	rs5186
Эндотелиальная синтаза оксида азота ( <i>eNOS</i> )	7q36.1 (№ 163729)	<i>4a/4b</i>	rs61722009
Ингибитор активатора плазминогена 1-го типа ( <i>PAI-1</i> )	7q21.3-q22 (№ 173360)	<i>-675 4G/5G</i>	rs1799768
Метилентетрагидрофолат-редуктаза ( <i>MTHFR</i> )	1p36.22 (№ 607093)	<i>C677T</i>	rs1801133

**Методы статистической обработки данных**

Оценка распределения изучаемых параметров проводилась графическим методом с применением критерия нормальности Колмогорова - Смирнова. Для признаков с распределением, отличным от нормального, результаты выражались в виде медианы с оценкой разброса величин по показателю интерквартильного размаха (25-й; 75-й перцентили). Значимость различий для непараметрических количественных переменных в

независимых выборках по одному признаку оценивали по ранговому U-критерию Манна-Уитни и критерию Краскела-Уоллиса, при множественных сравнениях использовали метод ANOVA. Оценку значимости качественных бинарных признаков в независимых группах и соответствие частот встречаемости генотипов изучаемых генов закону Харди-Вайнберга проводили с использованием критерия  $\chi^2$  и точного критерия Фишера. Для оценки взаимосвязи между исследуемыми показателями использовали непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену. При анализе сравнений 2-х зависимых групп по одному признаку применялся критерий Вилкоксона. Статистически значимыми считались различия при уровне значимости  $p < 0,05$ .

С целью определения предикторов прогрессирования СРНС у детей производился расчет отношения шансов (ОШ) с оценкой 95% доверительного интервала (ДИ) и значения критерия статистической значимости. Оценивалась почечная выживаемость методом Каплана-Мейера по критерию log-rank, использовались регрессионные виды анализа – логистическая регрессия, а также одно- и многофакторный анализ в модели пропорционального риска Кокса с расчетом отношения рисков (ОР), характеризующегося как риск наступления неблагоприятного почечного исхода с учетом длительности заболевания. Для определения диагностической точности установленных предикторов прогрессирующего течения СРНС у детей применяли построение характеристических кривых с оценкой площади над кривыми (area under curve – AUC).

Анализ гено-фенотипических ассоциаций у пациентов со СРНС проводился в соответствии с международными методологическими требованиями к генетическим исследованиям [Little J. et al., 2009; Janssens C.J.W. et al., 2011]. В работе использовали рекомендации Общества доказательной медицины для определения прогностической информативности установленных предикторов прогрессирования заболевания и ассоциаций полиморфных аллелей исследуемых генов с оценкой чувствительности и специфичности, прогностической ценности положительного и отрицательного результатов (ПЦПР) и (ПЦОР), отношения правдоподобия положительного результата (ОППР) [Страус Ш.Е. и др., 2010; Хенеган К. и др., 2011]. Статистическая обработка полученных данных исследования проведена с использованием программ SPSS 17.0 (IBM Inc., США), STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США) и GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Определение клинических и морфологических предикторов прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей

Среди 120 обследованных детей прогрессирующее течение СРНС со снижением СКФ менее 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> отмечалось у 21,7% пациентов в течение 38,4 (24,8-84,0) месяцев после манифестации заболевания.

При манифестации СРНС у больных с прогрессирующим течением заболевания статистически значимо чаще, чем у детей с сохранными функциями почек отмечались: возраст менее 12 лет: 88,5% и 64,9% (p=0,015), ОШ=4,2 (95% ДИ: 1,2-14,9), повышение уровня креатинина в крови: 42,3% и 27,7% (p=0,09), ОШ=1,9 (95% ДИ: 0,8-4,7), а также протеинурия более 1 г/24ч с гипоальбуминемией менее 25 г/л после стероидной терапии манифестации: 76,2% и 31,5% (p=0,0003), ОШ=7,0 (95% ДИ: 2,3-21,3). Не выявлено различий полового состава сравниваемых групп больных (p=0,17), отягощенной наследственности по патологии ОМС (p=0,30), длительности стероидной терапии при манифестации заболевания (p=0,47), длительности заболевания на момент последнего обследования (p=0,29) и сроков катамнестического наблюдения пациентов (p=0,09).

Снижений функций почек при манифестации заболевания является известным фактором риска неблагоприятного почечного исхода. А выявленное сохранение выраженной протеинурии с гипоальбуминемией после стероидной терапии манифестации СРНС у детей может рассматриваться в качестве раннего маркера значительного повреждения подоцитов с нарушением проницаемости гломерулярного фильтра.

У детей со СРНС, родившихся с малой массой тела (менее 2500 г), по сравнению с больными с массой тела при рождении более 2500 г выявлены быстрые темпы снижения СКФ - более 15 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> в год: 66,7% и 27,8% (p=0,045), ОШ=6,1 (95% ДИ: 1,1-35,2), развитие ФСГС: 83,6% и 41,6% (p=0,057), ОШ=7,0 (95% ДИ: 0,8-62,4) и отсутствие эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии: 100% и 42,9% (p=0,039), ОШ=12,0 (95% ДИ: 0,6-228,9).

При первом обследовании у детей с неблагоприятным почечным исходом СРНС по сравнению с больными с сохранными функциями почек статистически значимо чаще отмечались: протеинурия >5 г/1,73м<sup>2</sup>/24 ч: 65,4% и 28,7% (p=0,0008), ОШ=4,7 (95% ДИ: 1,9-11,8); гипоальбуминемия <25 г/л: 53,8% и 27,7% (p=0,012), ОШ=3,1 (95% ДИ: 1,3-7,5); распространенные отеки: 50% и 19,1% (p=0,002), ОШ=4,2 (95% ДИ: 1,7-10,7); АГ 2-й степени: 46,2% и 18,1% (p=0,005), ОШ=3,9 (95% ДИ: 1,5-9,9); в том числе систолическая артериальная гипертензия 2-й степени: 42,3% и 17% (p=0,006), ОШ=3,6 (95% ДИ: 1,4-9,2) и диастолическая артериальная гипертензия 2-й степени: 34,6% и 9,6% (p=0,004), ОШ=5,0

(95% ДИ: 1,7-14,4); увеличение АД >95 перцентили при СМАД в дневное время: 38,9% и 11,6% (p=0,01), ОШ=4,8 (95% ДИ: 1,5-15,4) и ночное время суток: 44,4% и 12,8% (p=0,004), ОШ=5,5 (95% ДИ: 1,8-16,8), снижение СКФ менее 90 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>: 53,8% и 7,4% (p<0,0001), ОШ=14,5 (95% ДИ: 4,9-43,1), а также гиперурикемия >0,4 ммоль/л: 34,6% и 13,8% (p=0,02), ОШ=3,3 (95% ДИ: 1,2-9,0); повышение эхогенности паренхимы почек: 84,6% и 38,3% (p<0,0001), ОШ=8,9 (95% ДИ: 2,8-27,8) и снижение кортико-медуллярной дифференцировки паренхимы почек при УЗИ: 57,7% и 28,7% (p=0,007), ОШ=3,4 (95% ДИ: 1,4-8,3).

Выраженная протеинурия и АГ, а также исходное снижение почечных функций являются ранее доказанными предикторами прогрессирования ХБП независимо от генеза патологии. Полученные данные об ассоциации гиперурикемии с прогрессирующим течением СРНС у детей подтверждают результаты экспериментальных исследований и у взрослых пациентов, рассматривающих повышенный уровень мочевой кислоты в крови в качестве медиатора прогрессирования ХБП и развития сердечно-сосудистых осложнений (Feig D.I. et al., 2006; Filiopoulos V. et al., 2012). Установленная высокая прогностическая значимость повышенной эхогенности и нарушенной кортико-медуллярной дифференцировки паренхимы почек при УЗИ у больных со СРНС согласуется с результатами ранее проведенного исследования, продемонстрировавшего взаимосвязь указанных УЗ-параметров с выраженностью паренхиматозного повреждения почек в виде гломерулосклероза и интерстициального фиброза у взрослых пациентов с ХБП [Moghazi S. et al., 2005].

При морфологическом исследовании почечной ткани пациентов с прогрессирующим течением СРНС в отличие от больных с сохранными функциями почек статистически значимо чаще выявлялся ФСГС: 80,9% и 34% (p<0,0001), ОШ=8,1 (95% ДИ: 2,8-23,6), а также сегментарный склероз более 25% гломерул: 53,8% и 12,8% (p<0,0001), ОШ=8,0 (95% ДИ: 3,0-21,3), диффузный фиброз интерстиция: 46,2% и 5,3% (p<0,0001), ОШ=15,3 (95% ДИ: 4,7-50,0), диффузная редукция малых отростков подоцитов: 80% и 29,5% (p=0,0005), ОШ=9,6 (95% ДИ: 2,4-38,0), склероз мезангиального матрикса, отражающий степень выраженности интрагломерулярного склероза: 57,7% и 28,7% (p=0,001), ОШ=4,4 (95% ДИ: 1,8-10,7), гипертрофия мышечного слоя внутрпочечных артериол: 46,2% и 17% (p=0,003), ОШ=4,2 (95% ДИ: 1,6-10,7) и артериолосклероз: 26,9% и 12,8% (p=0,078), ОШ=2,5 (95% ДИ: 0,9-7,3).

ФСГС и диффузный фиброз интерстиция являются доказанными морфологическими маркерами неблагоприятного почечного исхода гломерулопатий. Выявленная при электронной микроскопии нефробиоптатов диффузная редукция малых отростков

подоцитов у больных с прогрессирующим течением СРНС, по-видимому, является проявлением выраженного повреждения подоцитов со снижением способности к репарации их актинового цитоскелета, возможно генетически обусловленной, что продемонстрировано в экспериментальных моделях [Wharram V. et al., 2005]. Установленная повышенная частота гипертрофии мышечного слоя внутрпочечных артериол и артериолосклероза у пациентов с прогрессированием СРНС могут являться как проявлениями системной АГ, так и следствием выраженной активации ангиотензина II за счет повышенной экспрессии рецепторов в подоцитах [Hoffman S., 2004].

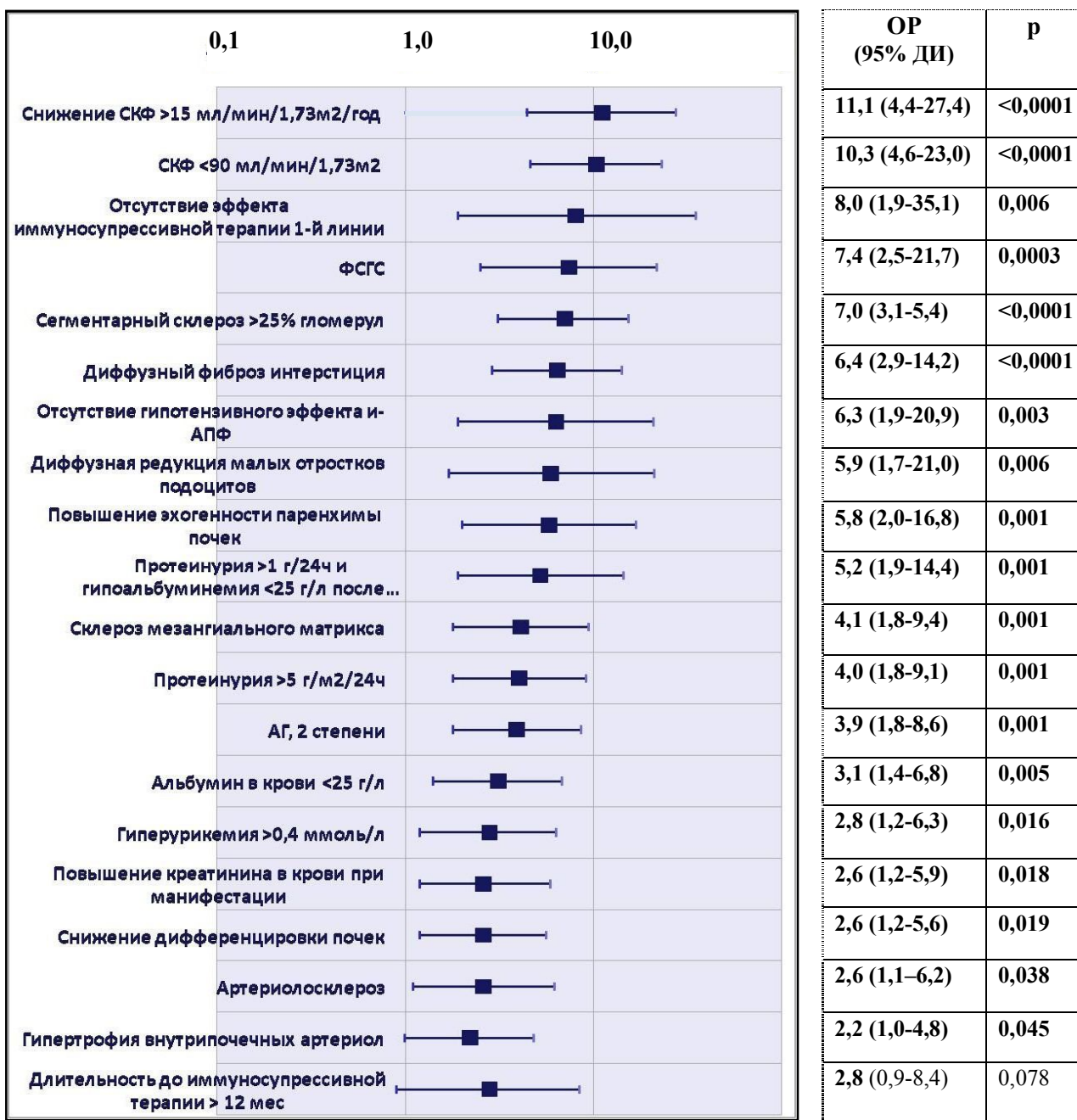
У пациентов с сохранными функциями почек в отличие от детей с прогрессирующим течением СРНС статистически значимо чаще отмечался МзПГН: 3,8% и 28,7% ( $p=0,004$ ), ОШ=10,1 (95% ДИ: 1,3-78,2). Не выявлено статистически значимых различий в группах больных с прогрессирующим и непрогрессирующим течением СРНС в частоте МБПГН: 11,5% и 17% ( $p=0,37$ ), НСМИ: 3,8% и 13,8% ( $p=0,14$ ) и МН: 0% и 6,5% ( $p=0,23$ ).

В динамике наблюдения у пациентов с прогрессирующим течением СРНС по сравнению с детьми с сохранными функциями почек статистически значимо чаще выявлялись: позднее назначение иммуносупрессивной терапии – более 12 месяцев от манифестации заболевания: 77,8% и 37,3% ( $p=0,002$ ), ОШ=5,9 (95% ДИ: 1,8-19,6); отсутствие эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии: 88,9% и 34,7% ( $p<0,0001$ ), ОШ=15,1 (95% ДИ: 3,2 -70,7); отсутствие гипотензивного эффекта терапии и-АПФ: 88,5% и 48,9% ( $p=0,0002$ ), ОШ=8,0 (95% ДИ: 2,2-28,6); а также быстрые ежегодные темпы снижения СКФ - более 15 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> в год: 76,9% и 9,6% ( $p<0,0001$ ), ОШ=31,5 (95% ДИ: 10,0-98,7).

Не выявлено различий в частоте гематурии, анемии, повышенного уровня холестерина и фибриногена в крови, а также характера люминесценции в нефробиоптатах больных с прогрессирующим течением СРНС и с благоприятным почечным исходом, что согласуется с результатами ранее проведенных исследований [Korbet S.M. et al., 1998; Ehrlich J.H.H. et al., 2007].

Определена высокая диагностическая и прогностическая информативность установленных предикторов неблагоприятного почечного исхода у детей со СРНС, что подтверждают значения специфичности, составляющие 81,2-96,1%, ПЦПР – 76,2-88,9% и ПЦОР – 71,3-94,7%, а также значения площади поверхности над характеристическими кривыми: AUC=0,52-0,89. Независимый характер установленных клинических и морфологических предикторов неблагоприятного почечного исхода у детей со СРНС был

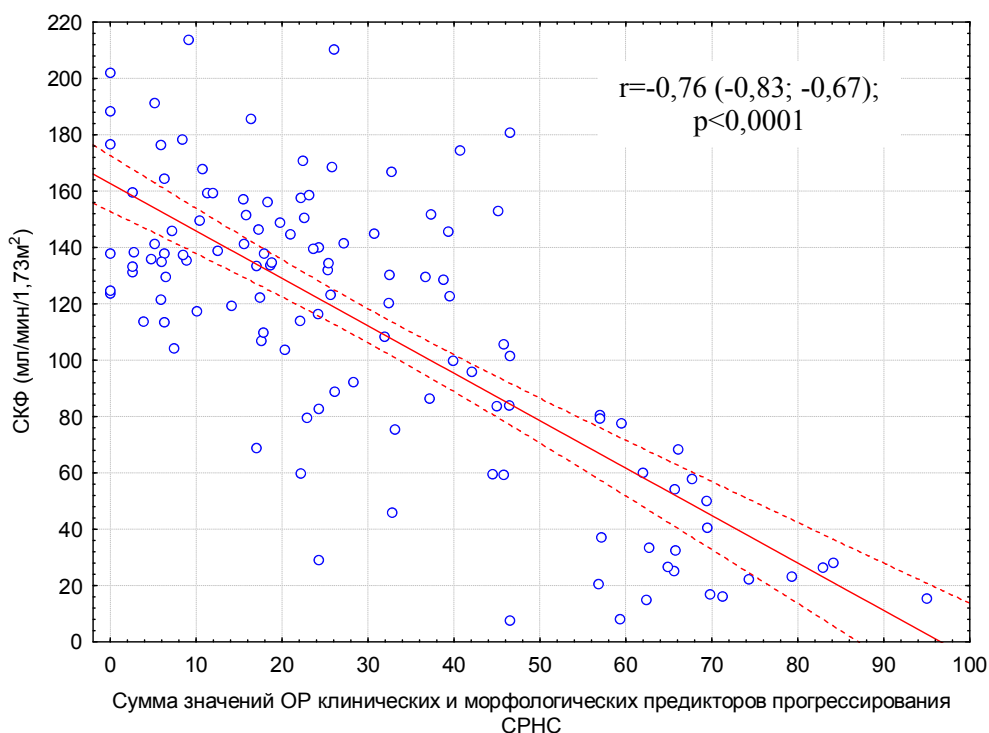
подтвержден при анализе в регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса с оценкой отношения рисков (ОР) для каждого из предикторов (рис. 2.).



**Рис. 2. Отношение рисков клинических и морфологических предикторов прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей.**

С целью разработки алгоритма, позволяющего прогнозировать индивидуальный риск прогрессирующего течения СРНС у детей, была произведена оценка суммы значений ОР каждого из установленных 13 клинических и 7 морфологических предикторов неблагоприятного почечного исхода, которая варьировала в диапазоне от 0 до 94.

Установлена обратная сильная корреляционная взаимосвязь между СКФ и суммой значений ОР независимых клинических и морфологических предикторов прогрессирования СРНС:  $r=-0,76$  (-0,83; -0,67) ( $p<0,0001$ ) (рис. 3.).



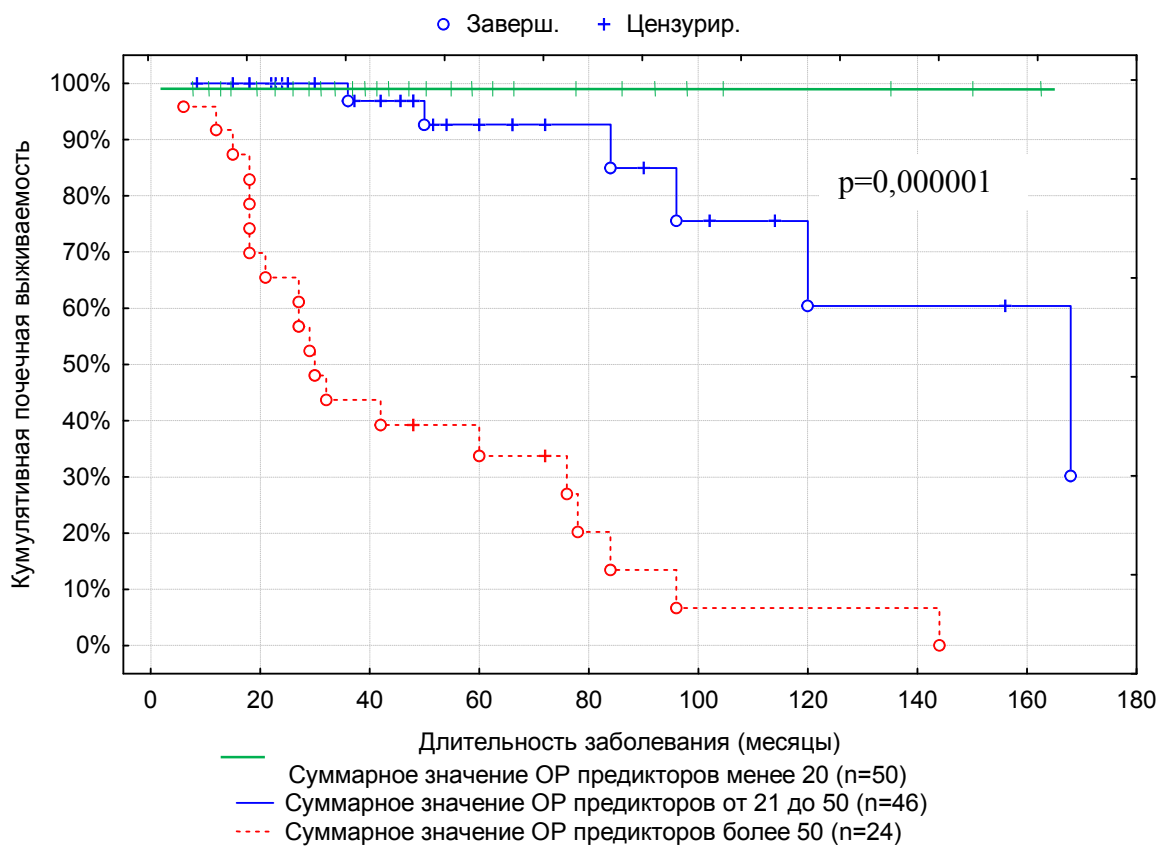
**Рис.3. Распределение СКФ в зависимости от суммы значений ОР клинических и морфологических предикторов прогрессирования СРНС у детей (n=120).**

На основании анализа кумулятивной почечной выживаемости у детей со СРНС было выделено 3 группы риска прогрессирующего течения заболевания с развитием ХПН в зависимости от суммарного значения ОР:

- 1-я группа низкого риска: суммарное значение ОР предикторов - менее 20 (n=50);
- 2-я группа среднего риска: суммарное значение ОР предикторов – от 21 до 50 (n=46);
- 3-я группа высокого риска: суммарное значение ОР предикторов – более 50 (n=24).

Кумулятивная почечная выживаемость статистически значимо различалась у больных в зависимости от суммы значений ОР предикторов прогрессирования СРНС и составляла: 5- и 10-летняя выживаемость – 100% и 100% у пациентов 1-й группы низкого риска, 93,2% и 74,1% - у больных 2-й группы среднего риска, 39,1% и 6,8% - у детей 3-й группы высокого риска, соответственно ( $p=0,000001$ ) (рис. 4.).





**Рис.4. Кумулятивная почечная выживаемость в зависимости от суммарного значения ОР клинических и морфологических предикторов прогрессирования СРНС у детей (n=120).**

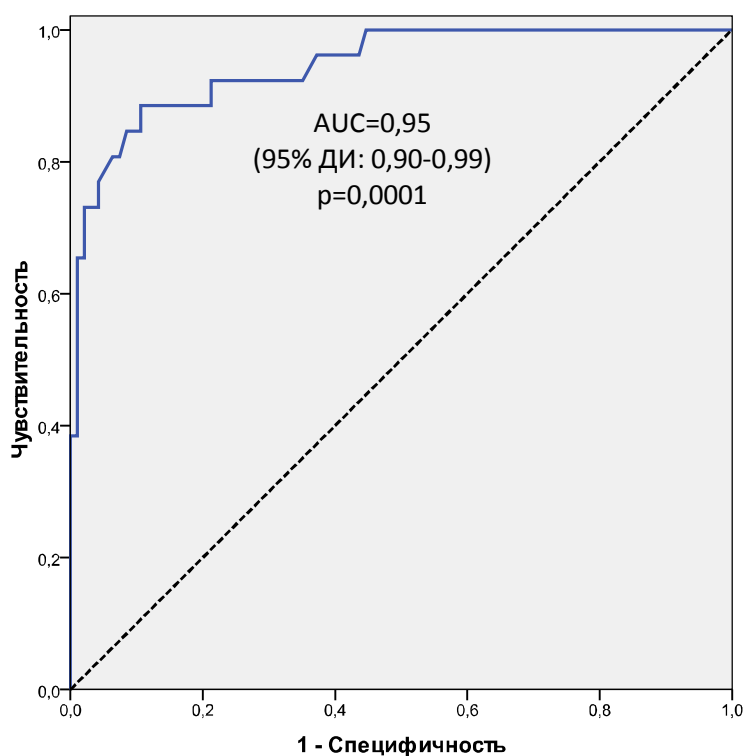
Определена высокая диагностическая и прогностическая информативность суммарного значения ОР клинических и морфологических предикторов неблагоприятного почечного исхода для оценки высокого риска прогрессирования СРНС у детей, что подтверждают значения чувствительности - 83,3%, специфичности - 93,8%, ПЦПР – 76,9% и ПЦОР – 95,7%.

На основании проведенного анализа разработан алгоритм прогнозирования прогрессирующего течения СРНС у детей с определением суммарного значения ОР клинических и морфологических предикторов неблагоприятного почечного исхода (рис. 5.).



**Рис.5. Алгоритм прогноза прогрессирующего течения СРНС у детей.**

Определена высокая диагностическая и прогностическая информативность разработанного алгоритма для прогнозирования течения СРНС у детей на основании определения суммарного значения ОР клинических и морфологических предикторов, позволяющего с 95% вероятностью выявлять пациентов с высоким риском развития ХПН. Разработанный алгоритм продемонстрировал преимущественную диагностическую и прогностическую информативность для прогноза прогрессирования СРНС у детей по сравнению с оценкой отдельного вклада каждого из предикторов неблагоприятного почечного исхода, что подтверждают значения площади над характеристической кривой: AUC=0,95 (95% ДИ: 0,90-0,99) (p=0,0001) (рис. 6.).



**Рис.6. Характеристическая кривая суммарного значения ОР клинических и морфологических предикторов прогрессирования СРНС у детей (n=120).**

Подтверждением точности прогнозирования течения СРНС у детей с использованием разработанного алгоритма явилась высокая частота совпадений рассчитанного и наблюдаемого риска неблагоприятного почечного исхода у больных с терминальной ХПН: у всех пациентов суммарное значение ОР установленных клинических и морфологических предикторов составляло более 50. В настоящее время в литературе приводятся сведения только о трех системах прогнозирования прогрессирования ХБП у взрослых пациентов, которые не включают СРНС [Wakai K. et al., 2006; Johnson E.S. et al., 2008; Landray M.J. et al., 2010].

Таким образом, с использованием подходов доказательной медицины были систематизированы ранее известные и выделены новые клинические и морфологические предикторы прогрессирования СРНС у детей, на основании которых разработан алгоритм индивидуального прогнозирования течения заболевания, позволяющий с 95% вероятностью выявлять пациентов с высоким риском развития ХПН.

**Анализ ассоциаций мутаций и полиморфных аллелей подоцитарных генов  
*NPHS2*, *NPHS1* и *TRPC6* с развитием и прогрессированием  
стероид-резистентного нефротического синдрома у детей**

В результате проведенного молекулярно-генетического исследования у обследованных детей со СРНС установлена низкая частота мутаций в гетерозиготном состоянии в подоцитарных генах: *NPHS2* (*c.259G>T*) - у 1,5%, *NPHS1* (*c.1218G>A*) - у 1,9% и *TRPC6* - у 0%. У пациентов с выявленными мутациями в генах *NPHS2* и *NPHS1* при нефробиопсии выявлен ФСГС. Полученные результаты не позволяют рассматривать данные гены в качестве основных генов-кандидатов, мутации в которых являются мажорной причиной развития СРНС у детей данной выборки. Возможными причинами низкой частоты мутаций в подоцитарных генах *NPHS2*, *NPHS1* и *TRPC6* у обследованных больных со СРНС могут рассматриваться особенности выборки пациентов с исключением врожденных, инфантильных, семейных случаев, с манифестацией заболевания, преимущественно, после 6-летнего возраста. Роль гетерозиготных мутаций в подоцитарных генах *NPHS2* и *NPHS1* у детей со СРНС не достаточно ясна в настоящее время, так как ФСГС, ассоциированный с мутациями в данных генах, представляет собой заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, что заставляет ожидать идентификации мутаций в обоих аллелях гена. Выявление одной гетерозиготной мутации в генах *NPHS2* и *NPHS1* у пациентов со СРНС не исключает возможных мутаций в других пока неизвестных генах, участвующих в обеспечении структурно-функциональной деятельности гломерулярного фильтрационного барьера.

Несмотря на важную роль белков, кодируемых подоцитарными генами *NPHS2*, *NPHS1* и *TRPC6*, до настоящего времени остается неизученным потенциальное влияние полиморфных аллелей данных генов на фенотипическую вариабельность клинических и морфологических проявлений СРНС у детей. В результате проведенного молекулярно-генетического исследования подоцитарных генов у 5,9% пациентов со СРНС выявлен полиморфный аллель *c.873+7A>G* гена *NPHS2*, у 58,5% детей - полиморфные аллели гена *NPHS1* (*c.349G>A*, *c.791C>G*, *c.1175C>T*, *c.1223G>A*) и у 65,2% больных - полиморфные аллели гена *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.43C>T*, *c.1211C>T*). Выявленные полиморфные аллели исследуемых подоцитарных генов ранее были описаны в генетической базе данных HGMD, и большая часть из них находилась в гетерозиготном состоянии.

Дигенное носительство гетерозиготных мутаций и полиморфных аллелей генов *NPHS2* и *NPHS1* установлено у 6,3% больных, дигенное носительство аллельного полиморфизма генов *TRPC6* и *NPHS1* – у 26,7% обследованных детей со СРНС. В литературе имеются немногочисленные описания дигенного носительства гетерозиготных

мутаций и полиморфных аллелей генов *NPHS2* и *NPHS1* при СРНС у детей с обсуждением потенциального модифицирующего влияния генотипов подоцитарных генов на фенотипические проявления заболевания [Koziell A. et al., 2002; Obeidova H. et al., 2006].

У детей со СРНС частота отдельных полиморфных аллелей подоцитарных генов статистически значимо не различалась по сравнению с группой контроля: гена *NPHS2* - *c.873+7A>G* ( $p=0,31$ ), гена *NPHS1* - *c.349G>A* ( $p=0,82$ ), *c.791C>G* ( $p=0,35$ ), *c.1175C>T* ( $p=0,47$ ), *c.1223G>A* ( $p=0,47$ ) и гена *TRPC6* - *c.1683T>C* ( $p=0,27$ ), *c.1211C>T* ( $p=0,1$ ), *c.43C>T* ( $p=0,25$ ). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии ассоциаций выявленных полиморфных аллелей генов *NPHS2*, *NPHS1* и *TRPC6* с развитием СРНС у детей.

Комбинация из 3-х полиморфных аллелей гена *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*) выявлена только у больных со СРНС в отличие от группы контроля: 17,4% и 0% ( $p=0,02$ ), ОШ=15,2 (95% ДИ: 0,9-274,0), что может рассматриваться в качестве генетической предрасположенности к развитию заболевания. Информативность установленной ассоциации повышенного риска развития СРНС у детей с носительством комбинации из 3-х полиморфных аллелей гена *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*) подтверждается высокими значениями диагностической чувствительности, составляющей 100%, ПЦОР – 100% и ОППР – 1,9.

ФСГС у пациентов со СРНС наблюдался статистически значимо чаще у детей с дигенным носительством полиморфных аллелей гена *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*) и гена *NPHS1* (*c.349G>A*, *c.1223G>A*) по сравнению с больными с наличием полиморфных аллелей только гена *TRPC6*: 87,5% и 36,4%, соответственно ( $p=0,037$ ), ОШ=12,2 (95% ДИ: 1,1-139,1). Высокая прогностическая эффективность выявления дигенного носительства полиморфных аллелей подоцитарных генов *TRPC6* и *NPHS1* для определения риска развития ФСГС у детей со СРНС подтверждается показателями диагностической специфичности – 87,5%, ПЦОР - 87,5% и ОППР - 5,09.

Риск развития ФСГС у больных со СРНС не ассоциирован с отдельными полиморфными аллелями подоцитарных генов: *NPHS2* - *c.873+7A>G* ( $p=0,39$ ), *NPHS1* - *c.349G>A* ( $p=0,38$ ), *c.791C>G* ( $p=0,5$ ), *c.1175C>T* ( $p=0,31$ ), *TRPC6* - *c.1683T>C* ( $p=0,23$ ), *c.1211C>T* ( $p=0,82$ ), *c.43C>T* ( $p=0,53$ ), с дигенным носительством гетерозиготных мутаций и полиморфных аллелей генов *NPHS2* и *NPHS1* ( $p=0,58$ ).

Не выявлено гено-фенотипических корреляций полиморфных аллелей подоцитарных генов *NPHS2*, *NPHS1* и *TRPC6* и их дигенного носительства - генов *NPHS2* - *NPHS1* и генов *TRPC6* - *NPHS1* с возрастом больных при манифестации СРНС ( $p>0,05$ ), с

протеинурией более 5 г/1,73м<sup>2</sup>/24 ч (p>0,05), с другими морфологическими вариантами заболевания – МзПГН, МбПГН и НСМИ (p>0,05).

Риск прогрессирующего течения СРНС у детей не зависел от носительства отдельных полиморфных аллелей подоцитарных генов: *NPHS2* - с.873+7A>G (p=0,45), *NPHS1* - с.349G>A (p=0,60), с.791C>G (p=0,35), *TRPC6* - с.1683T>C (p=0,44), с.43C>T (p=0,71); от генотипа по полиморфизму с.349G>A гена *NPHS1*: в гомозиготном состоянии (p=0,53), в компаунд-гетерозиготном (p=0,60) и в простом гетерозиготном состоянии (p=0,38); от числа полиморфных генотипов гена *TRPC6* - один генотип (p=0,69); комбинацией из 2-х генотипов (p=0,32) и из 3-х генотипов (p=0,55); от дигенного носительства гетерозиготных мутаций и полиморфных аллелей генов *NPHS2* и *NPHS1* (p=0,40) и генов *TRPC6* и *NPHS1* (p=0,72). Полученные данные относительно отсутствия ассоциаций полиморфных аллелей гена *NPHS1* с прогрессированием СРНС у детей подтверждают результаты ранее проведенных исследований, включающих малочисленные выборки пациентов [Lahdenkari A.T. et al., 2004; Caridi G. et al., 2009]. В литературе не найдено работ, анализирующих потенциальные ассоциации дигенного носительства гетерозиготных мутаций и полиморфных аллелей подоцитарных генов *NPHS2*, *NPHS1* и *TRPC6* с прогрессированием СРНС у детей.

Эффективность иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со СРНС не различалась в зависимости от наличия полиморфных аллелей подоцитарных генов: *NPHS2* - с.873+7A>G (p=0,59); *NPHS1* - с.349G>A (p=0,29); *TRPC6* - с.1683T>C (p=0,43), числа полиморфных генотипов гена *TRPC6* - один генотип (p=0,25); комбинация из 2-х генотипов (p=0,52); комбинация из 3-х генотипов (p=0,24), от дигенного носительства гетерозиготных мутаций и полиморфных аллелей генов *NPHS2* и *NPHS1* (p=0,66) и генов *TRPC6* и *NPHS1* (p=0,38). Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения патогенетической иммуносупрессивной терапии СРНС у детей независимо от наличия исследованных полиморфных аллелей подоцитарных генов *NPHS2*, *NPHS1* и *TRPC6*.

Таким образом, проведенный анализ позволил выявить ряд закономерностей, свидетельствующих об ассоциации повышенного риска развития СРНС в исследованной выборке российских детей при наличии комбинации из 3-х полиморфных аллелей гена *TRPC6*, а также риска развития ФСГС у пациентов с дигенным носительством полиморфных аллелей генов *TRPC6* и *NPHS1*. Установлено, что эффективность иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со СРНС не зависит от наличия полиморфных аллелей подоцитарных генов *NPHS2*, *NPHS1* и *TRPC6* и дигенного носительства гетерозиготных мутаций и полиморфных аллелей данных генов.

**Анализ ассоциаций полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы  
- ACE (I/D), AGT (M235T), AGTR1 (A1166C)  
и генов эндотелиальной дисфункции - eNOS (4a/4b), PAI-1 (4G/5G), MTHFR (C677T)  
с предрасположенностью к прогрессированию СРНС у детей**

Распределение аллелей и генотипов генов ренин-ангиотензиновой системы - ACE (I/D), AGT (M235T), AGTR1 (A1166C) и генов эндотелиальной дисфункции - eNOS (4a/4b), PAI-1 (4G/5G), MTHFR (C677T) у детей со СРНС находилось в соответствии с законом Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ), что подтверждает отсутствие ассоциаций риска развития СРНС у детей с аллельным полиморфизмом исследуемых генов.

Повышенный уровень АД, включая высокое нормальное АД и АГ 1-й и 2-й степени, отмечался статистически значимо чаще у пациентов со СРНС с генотипом D/D гена ACE (I/D) в отличие от больных с генотипом I/I гена ACE (I/D): 81,8% и 46,2% ( $p = 0,02$ ), ОШ=3,9 (95% ДИ: 1,0-14,6). Выраженная протеинурия более 5 г/1,73м<sup>2</sup>/24 ч наблюдалась также значимо чаще у детей с генотипом D/D в отличие от больных с генотипом I/I гена ACE (I/D): 50% и 15,4% ( $p = 0,01$ ), ОШ=5,5 (1,4-21,3). Информативность выявленных ассоциаций генотипа D/D гена ACE (I/D) с АГ и протеинурией более 5 г/1,73м<sup>2</sup>/24ч у пациентов со СРНС подтверждается значениями ПЦПР – 81,8%, ПЦОР – 84,6% и ОППР – 2,2. Установленные ассоциации генотипа D/D гена ACE у детей со СРНС свидетельствуют о генетической предрасположенности к развитию АГ и выраженной протеинурии, являющихся доказанными клиническими предикторами неблагоприятного почечного исхода.

Не выявлено ассоциаций риска развития АГ и протеинурии более 5 г/1,73м<sup>2</sup>/24ч у больных со СРНС с аллельным полиморфизмом генов AGT (M235T), AGTR1 (A1166C), eNOS (4a/4b), PAI-1 (4G/5G) и MTHFR (C677T) ( $p > 0,05$ ). Гипертензионное поражение органов-мишеней в виде гипертрофии миокарда левого желудочка и ангиопатии сетчатки также не ассоциированы с аллельным полиморфизмом генов ренин-ангиотензиновой системы - ACE (I/D), AGT (M235T) и AGTR1 (A1166C) ( $p > 0,05$ ).

ФСГС отмечался статистически значимо чаще у больных со СРНС с генотипом T/T гена AGT(M235T) по сравнению с детьми с генотипом M/M гена AGT(M235T): 65% и 22,2% ( $p = 0,004$ ), ОШ=6,5 (95% ДИ: 1,8-23,7). Прогностическая информативность выявленной ассоциации риска развития ФСГС у детей со СРНС с генотипом T/T гена AGT(M235T) подтверждается значениями ПЦПР – 65%, ПЦОР – 77,8% и ОППР – 2,74. Установленная ассоциация может рассматриваться в качестве генетической предрасположенности к развитию ФСГС у пациентов со СРНС при наличии генотипа T/T

гена *AGT* (*M235T*), вероятно, обусловленной активацией рецепторов к ангиотензину II, экспрессированных в подоцитах [Hoffmann S. et al., 2004].

Не выявлено ассоциаций развития ФСГС у пациентов со СРНС с аллельным полиморфизмом других исследуемых генов ренин-ангиотензиновой системы: генотипа *D/D* гена *ACE* (*I/D*) ( $p=0,33$ ), аллеля *C* гена *AGTR1* (*A1166C*) ( $p=0,84$ ) и генов эндотелиальной дисфункции: генотипа *4b/4b* гена *eNOS* (*4a/4b*) ( $p=0,37$ ), генотипа *4G/4G* гена *PAI-1* (*4G/5G*) ( $p=0,41$ ) и аллеля *T* гена *MTHFR* (*C677T*) ( $p=0,16$ ). Полученные результаты согласуются с данными мета-анализа 12 рандомизированных контролируемых исследований (РКИ), не выявивших ассоциаций аллельного полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы с развитием ФСГС у детей со СРНС различных популяций [Zhou T-B. et al., 2011].

Частота прогрессирующего течения СРНС у детей статистически значимо не различалась в зависимости от аллельного полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы: генотипа *D/D* гена *ACE* (*I/D*) ( $p=0,60$ ), генотипа *T/T* гена *AGT* (*M235T*) ( $p=0,11$ ), аллеля *C* гена *AGTR1* (*A1166C*) ( $p=0,08$ ) и генов эндотелиальной дисфункции: генотипа *4b/4b* гена *eNOS* (*4a/4b*) ( $p=0,28$ ), генотипа *4G/4G* гена *PAI-1* (*4G/5G*) ( $p=0,63$ ) и аллеля *T* гена *MTHFR* (*C677T*) ( $p=0,35$ ). Полученные данные свидетельствует об отсутствии ассоциаций аллельного полиморфизма исследуемых генов ренин-ангиотензиновой системы и эндотелиальной дисфункции с прогрессированием СРНС у детей при наличии других значимых предикторов неблагоприятного почечного исхода, что было продемонстрировано ранее у детей и взрослых пациентов с нефротическим синдромом [Шарнова Ж.П., 2007; Catarsi P. et al., 2005].

Отсутствие гипотензивного эффекта терапии и-АПФ наблюдалось статистически значимо чаще у детей со СРНС с генотипом *T/T* гена *AGT* (*M235T*) по сравнению с больными с генотипом *M/M* гена *AGT* (*M235T*): 65% и 26,9% ( $p=0,011$ ), ОШ=5,0 (95% ДИ: 1,4-17,8). Информативность выявленной ассоциации генотипа *T/T* гена *AGT* (*M235T*) с эффектом гипотензивной терапии и-АПФ у больных со СРНС подтверждается значениями ОППР – 2,41. Установленная ассоциация, вероятно, свидетельствует о генетической предрасположенности индивидуального ответа больных на гипотензивную терапию и-АПФ. Не выявлено ассоциаций полиморфизма других исследуемых генов ренин-ангиотензиновой системы и эндотелиальной дисфункции с эффективностью гипотензивной терапии и-АПФ у детей со СРНС: генотипа *D/D* гена *ACE* (*I/D*) ( $p=0,53$ ), аллеля *C* гена *AGTR1* (*A1166C*) ( $p=0,23$ ) и генотипа *4b/4b* гена *eNOS* (*4a/4b*) ( $p=0,063$ ).

Таким образом, на основании проведенного анализа установлено, что прогрессирование СРНС у детей не зависит от аллельного полиморфизма исследуемых



генов ренин-ангиотензиновой системы и эндотелиальной дисфункции. Выявлена ассоциация повышенного риска развития АГ и протеинурии более 5 г/1,73м<sup>2</sup>/24ч у пациентов со СРНС с генотипом *D/D* гена *ACE* (*I/D*), а также ассоциация повышенного риска развития ФСГС и отсутствия гипотензивного эффекта терапии и-АПФ с генотипом *T/T* гена *AGT* (*M235T*).

### **Сравнительная эффективность иммуносупрессивной терапии СРНС у детей**

Развитие ремиссии СРНС, индуцируемой иммуносупрессивной терапией, является клиническим предиктором благоприятного прогноза заболевания с сохранными функциями почек [Cattran D.C. et al., 1998; Ehrich J.H.H. et al., 2007]. В настоящее время продолжается активный поиск эффективных иммуносупрессивных препаратов с наименьшим потенциальным токсическим профилем для лечения СРНС.

На основании проведенного сравнительного анализа не установлено преимущественной статистически значимой эффективности иммуносупрессивной терапии с использованием циклоспорина А, циклофосфана в/в, ММФ и такролимуса у детей со СРНС. Развитие ремиссии (полной и частичной) заболевания после применения циклофосфана в/в отмечалось у 50% больных, циклоспорина А - у 61,1%, ММФ - у 50% и такролимуса - у 62,5% детей, соответственно ( $p=0,68$ ). Полученные результаты согласуются с данными системного мета-анализа 9 РКИ, в котором положительный эффект иммуносупрессивной терапии достигнут у 50-60% детей со СРНС [Habashy D. et al., 2003] и подтверждают результаты недавно проведенных РКИ, в которых не выявлено различий эффективности циклоспорина А по сравнению с ММФ [Gipson D.S. et al., 2011] и такролимусом [Hodson E.M. et al., 2010]. Однако в ряде РКИ у детей со СРНС продемонстрирована преимущественная эффективность циклоспорина А и такролимуса по сравнению с циклофосфаном в/в [Hodson E.M. et al., 2010; Gulati A. et al., 2011], что может быть связано с использованием короткого 6-месячного курса в/в циклофосфана.

Отсутствие эффекта иммуносупрессивной терапии наблюдалось более чем у 50% детей с ФСГС независимо от используемых препаратов: циклоспорин А – 63,1%, циклофосфан в/в – 67,7%, ММФ – 57,1%, такролимус – 50% ( $p>0,05$ ), что значительно чаще по сравнению с больными с МзПГН: циклоспорин А – 10%, циклофосфан в/в – 31,2%, ММФ – 42,9%, такролимус – 0%, а также чаще, чем у пациентов с НСМИ: циклоспорин А – 0%, циклофосфан в/в – 20%, ММФ – 66,7%, соответственно ( $p<0,05$ ).

Суммарная частота побочных эффектов проводимой иммуносупрессивной терапии статистически значимо не различалась при использовании ингибиторов кальцинейрина - циклоспорина А и такролимуса - 58,3% и 75% ( $p=0,33$ ). Выявлена повышенная частота побочных эффектов терапии циклоспорином А и такролимусом по сравнению с в/в

циклофосфаном: 58,3% пр. 35,9% ( $p=0,025$ ), ОШ=2,5 (1,1-5,8) и 75% пр. 35,9% ( $p=0,042$ ), ОШ=5,4 (1,0-28,7), соответственно, а также при использовании циклоспорина А и такролимуса по сравнению с ММФ: 58,3% и 27,8% ( $p=0,033$ ), ОШ=3,6 (1,1-13,4) и 75% пр. 27,8% ( $p=0,034$ ), ОШ=7,8 (1,2-52,4), соответственно. Развитие АГ и нефротоксичный эффект терапии циклоспорином А и такролимусом наблюдались с одинаковой частотой: 38,9% и 37,5% ( $p=0,64$ ), а также 16,7% и 25% ( $p=0,29$ ), соответственно, в то время, как гиперкалиемия выявлялась чаще при использовании такролимуса по сравнению с циклоспорином А: 50% и 8,3% ( $p=0,014$ ), ОШ=11,0 (1,8-68,0).

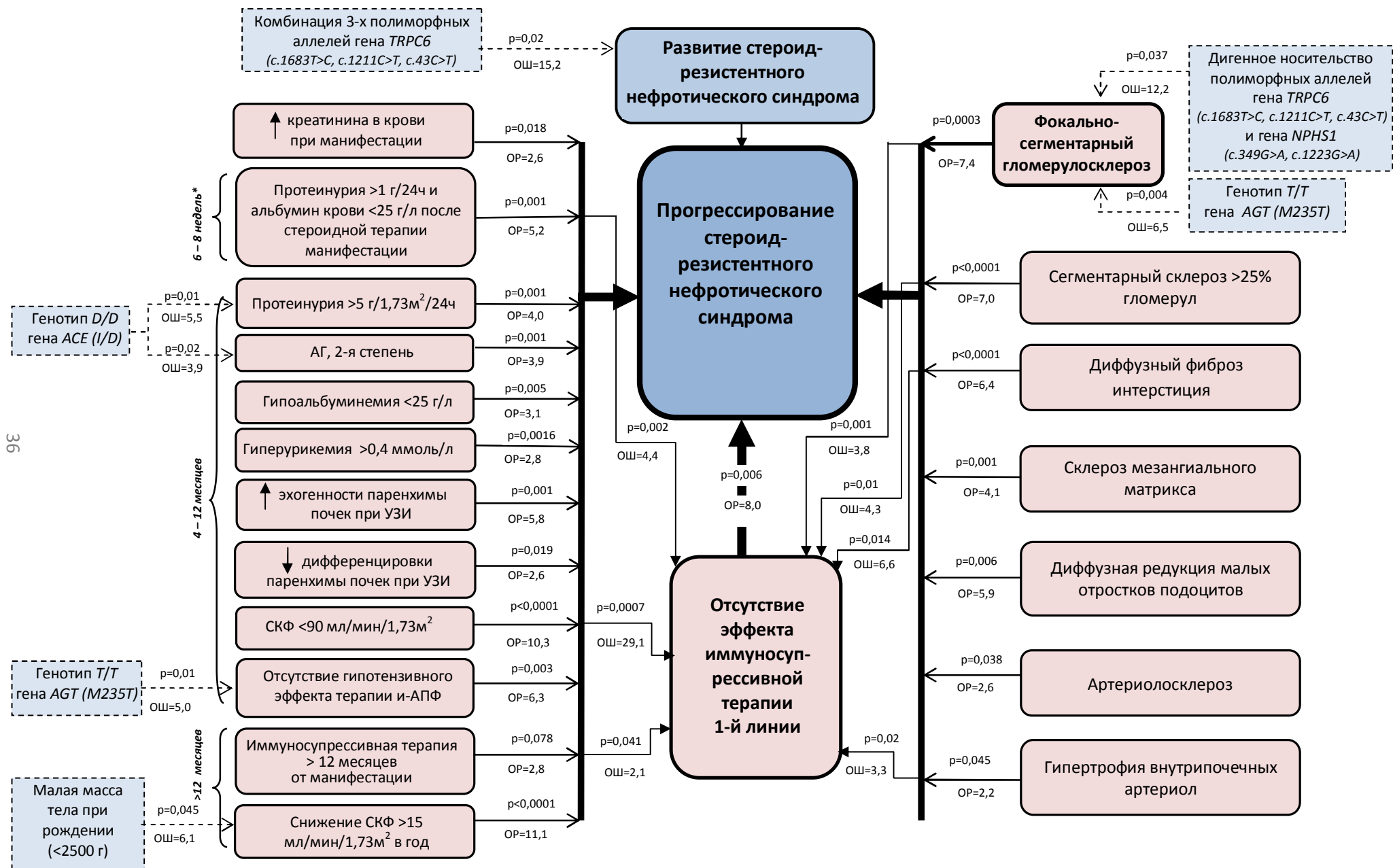
Проведенный анализ эффективности иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со СРНС позволил выявить клинические и морфологические предикторы отсутствия эффекта иммуносупрессивной терапии: протеинурия более 1 г/л с гипоальбуминемией менее 25 г/л после стероидной терапии манифестации заболевания: 59,4% и 25% ( $p=0,002$ ), ОШ=4,4 (95% ДИ: 1,6-12,3); ФСГС: 60,5% и 39,5% ( $p=0,001$ ), ОШ=3,8 (95% ДИ: 1,6-9,2); сегментарный склероз более 25% гломерул: 32,4% и 10% ( $p=0,01$ ), ОШ=4,3 (95% ДИ: 1,4-13,7); диффузный фиброз интерстиция: 21,6% и 4% ( $p=0,014$ ), ОШ=6,6 (95% ДИ: 1,3-33,4); гипертрофия мышечного слоя внутрпочечных артериол: 35,1% и 14% ( $p=0,02$ ), ОШ=3,3 (95% ДИ: 1,2-9,5); снижение СКФ менее 90 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> до назначения иммуносупрессивной терапии: 21,6% и 0% ( $p=0,0007$ ), ОШ=29,1 (95% ДИ: 1,6-523,0), а также позднее назначение иммуносупрессивной терапии - более 12 месяцев от манифестации заболевания: 56,8% и 38% ( $p=0,041$ ), ОШ=2,1 (95% ДИ: 0,9-5,1). Полученные данные подтверждают результаты ранее проведенных исследований о наличии взаимосвязи выраженных склеротических изменений в почечной ткани с отсутствием эффекта иммуносупрессивной терапии у детей со СРНС [Цыгин А.Н., 1996; Abeyagunawardena A.S. et al., 2007]. Выявленные предикторы отсутствия эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии свидетельствуют о необходимости своевременного назначения патогенетической терапии после подтверждения стероидной резистентности и определения морфологического варианта патологии.

Таким образом, в результате проведенного комплексного анализа клинических и морфологических проявлений СРНС у детей, исследования мутаций и аллельного полиморфизма генов подоцитов, ренин-ангиотензиновой системы и эндотелиальной дисфункции, а также оценки эффективности иммуносупрессивной терапии и гипотензивной терапии и-АПФ выявлен ряд закономерностей, на основании которых сформулирована патогенетически обоснованная концепция прогрессирования заболевания (рис.7.). Получены доказательства полигенной природы прогрессирования СРНС, позволившие обосновать ведущую роль ФСГС, развитие которого ассоциировано с

дигенным носительством полиморфных аллелей подоцитарных генов *TRPC6* и *NPHS1*, а также с генотипом *T/T* гена *AGT* (*M235T*). Вероятно, вовлечение полиморфных аллелей одновременно 2-х подоцитарных генов *TRPC6* и *NPHS1*, кодирующих основные белки гломерулярного фильтрационного барьера, вносит потенцирующий вклад в повреждение подоцитов с последующим развитием гломерулосклероза. А генотип *T/T* гена *AGT* (*M235T*), обуславливающий повышение активности ангиотензина II, может являться триггером выраженной дисфункции подоцитов у детей со СРНС за счет активации экспрессии подоцитарных рецепторов 1-го типа.

Выявленная ассоциация повышенного риска развития СРНС у детей с комбинацией из 3-х полиморфных аллелей гена *TRPC6* может свидетельствовать о потенциальном модифицирующем влиянии данной комбинации на снижение способности к восстановлению цитоскелета подоцитов после стероидной терапии, что приводит к значительному нарушению проницаемости гломерулярного фильтра и выраженной протеинурии.

В разработанной концепции прогрессирования СРНС у детей представлен количественный вклад 13 клинических и 7 морфологических предикторов неблагоприятного почечного исхода, определенных с использованием методов доказательной медицины. Показаны ассоциации быстрых темпов снижения СКФ в год у детей со СРНС, родившихся с малой массой тела (менее 2500 г), что связано с развитием ФСГС и отсутствием эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии, а также ассоциации риска развития АГ и выраженной протеинурии более 5 г/1,73м<sup>2</sup>/24ч с генотипом *D/D* гена *ACE* (*I/D*) и отсутствия гипотензивного эффекта терапии и-АПФ с генотипом *T/T* гена *AGT* (*M235T*). Представлен количественный вклад предикторов отсутствия эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со СРНС.



**Рис.7. Концептуальная схема прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей.**

\*Длительность СРНС

## ВЫВОДЫ

1. Научно обоснована патогенетическая концепция прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей, основанная на совокупности клинических и морфологических проявлений заболевания, ассоциированных с аллельным полиморфизмом генов подоцитов и ренин-ангиотензиновой системы и определяемая существенным вкладом эффективности иммуносупрессивной терапии 1-й линии.
2. Разработана система прогнозирования риска прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей, включающая 13 клинических и 7 морфологических предикторов неблагоприятного почечного исхода с оценкой суммарного вклада значений каждого из них, которая позволяет с 95% вероятностью выявлять пациентов с высоким риском развития хронической почечной недостаточности.
3. Малая масса тела (менее 2500 г) при рождении детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом является фактором риска прогрессирования заболевания в виде быстрых темпов снижения скорости клубочковой фильтрации - более 15 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> в год, развития фокально-сегментарного гломерулосклероза и отсутствия эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии, что подтверждает вклад врожденного дефицита нефронов в развитие гломерулосклероза.
4. Установлена низкая частота мутаций в подоцитарных генах *NPHS2* (1,5%), *NPHS1* (1,9%) и *TRPC6* (0%), что не позволяет рассматривать данные гены в качестве основных генов-кандидатов, ответственных за развитие стероид-резистентного нефротического синдрома у российских детей обследованной выборки.
5. Риск развития стероид-резистентного нефротического синдрома у детей в 15 раз выше при наличии комбинации из 3-х полиморфных аллелей гена *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*), что свидетельствует о потенциальном модифицирующем влиянии аллельной комбинации данного гена на выраженность дисфункции подоцитов.
6. У детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом риск развития фокально-сегментарного гломерулосклероза в 12 раз выше при наличии дигенного носительства полиморфных аллелей генов *TRPC6* (*c.1683T>C*, *c.1211C>T*, *c.43C>T*) и *NPHS1* (*c.349G>A*, *c.1223G>A*) и в 5 раз выше при носительстве генотипа *T/T* гена *AGT* (*M235T*), что указывает на генетическую предрасположенность к развитию гломерулосклероза.

7. Прогрессирование стероид-резистентного нефротического синдрома у детей не ассоциировано с носительством отдельных полиморфных аллелей подоцитарных генов: *NPHS2* (с.873+7A>G), *NPHS1* (с.349G>A, с.791C>G), *TRPC6* (с.1683T>C, с.43C>T), а также с аллельным полиморфизмом генов ренин-ангиотензиновой системы - *ACE* (I/D), *AGT* (M235T), *AGTR1* (A1166C) и эндотелиальной дисфункции - *eNOS* (4a/4b), *PAI-1* (4G/5G) и *MTHFR* (C677T).
8. Риск развития артериальной гипертензии и протеинурии более 5 г/1,73м<sup>2</sup>/24ч у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом в 3 раза выше при наличии генотипа D/D гена *ACE* (I/D), определяющего повышенную активность ангиотензина II, что свидетельствует о генетической предрасположенности к развитию данных клинических предикторов неблагоприятного почечного исхода.
9. Эффективность иммуносупрессивной терапии стероид-резистентного нефротического синдрома у детей не различается при использовании циклоспорина А, циклофосфана внутривенно, микофенолата мофетила и такролимуса. Более чем у 50% детей с фокально-сегментарным гломерулосклерозом не наблюдается положительного эффекта иммуносупрессивной терапии независимо от используемых препаратов (циклоспорин А, циклофосфан внутривенно, микофенолата мофетил, такролимус), что значительно чаще, чем у пациентов с мезангио-пролиферативным гломерулонефритом и нефротическим синдромом с минимальными изменениями.
10. Предикторами отсутствия эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом являются: протеинурия более 1 г/л с гипоальбуминемией менее 25 г/л после стероидной терапии манифестации заболевания, снижение скорости клубочковой фильтрации менее 90 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, фокально-сегментарный гломерулосклероз, сегментарный склероз более 25% гломерул, диффузный фиброз интерстиция, гипертрофия внутривисочечных артериол и позднее назначение иммуносупрессивной терапии - более 12 месяцев после манифестации заболевания.
11. Эффективность иммуносупрессивной терапии 1-й линии у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом не зависит от аллельного полиморфизма подоцитарных генов: *NPHS2* (с.873+7A>G), *NPHS1* (с.349G>A), *TRPC6* (с.1683T>C), а также их генотипических комбинаций и дигенного носительства, что свидетельствует о необходимости проведения патогенетической терапии заболевания независимо от наличия полиморфизма указанных генов.

12. Риск отсутствия гипотензивного эффекта терапии ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом в 6 раз выше при наличии генотипа *T/T* гена *AGT (M235T)*, что указывает на генетическую детерминированность индивидуального ответа больных.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для прогнозирования течения стероид-резистентного нефротического синдрома у детей рекомендуется использовать разработанный алгоритм с определением суммарного вклада клинических и морфологических предикторов неблагоприятного почечного исхода, который позволяет с высокой вероятностью оценивать индивидуальный риск развития хронической почечной недостаточности.
2. При прогнозировании течения стероид-резистентного нефротического синдрома рекомендуется выяснение массы тела детей при рождении. У пациентов, родившихся с малой массой тела (менее 2500 г), имеется повышенный риск прогрессирования заболевания с быстрыми темпами снижения почечных функций в год, развитием фокально-сегментарного гломерулосклероза и отсутствием эффекта иммуносупрессивной терапии 1-й линии.
3. Для повышения эффективности раннего прогнозирования развития стероид-резистентного нефротического синдрома у детей рекомендуется определение комбинации 3-х полиморфных аллелей гена *TRPC6 (c.1683T>C, c.1211C>T, c.43C>T)*.
4. В качестве генетических маркеров предрасположенности к развитию фокально-сегментарного гломерулосклероза у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом рекомендуется определение дигенного носительства полиморфных аллелей подоцитарных генов *TRPC6 (c.1683T>C, c.1211C>T, c.43C>T)* и *NPHS1 (c.349G>A, c.1223G>A)*, а также генотипа *T/T* гена *AGT (M235T)*.
5. Рекомендуется определение полиморфизма гена *ACE (I/D)* у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом для прогнозирования развития артериальной гипертензии и выраженной протеинурии более 5 г/1,73м<sup>2</sup>/24ч, являющихся независимыми клиническими предикторами неблагоприятного почечного исхода заболевания.
6. Рекомендуется своевременное назначение патогенетической иммуносупрессивной терапии стероид-резистентного нефротического синдрома у детей после подтверждения стероидной резистентности и определения морфологического

варианта патологии, что значительно повышает вероятность достижения ремиссии заболевания.

7. Для прогнозирования эффективности гипотензивной терапии ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом рекомендуется определение полиморфизма гена *AGT* (*M235T*). У больных с генотипом *T/T* гена *AGT* (*M235T*) наблюдается высокий риск отсутствия эффекта гипотензивной терапии ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента, что требует своевременного назначения комбинированной гипотензивной терапии.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Prikhodina L.**, Zaklyazminskaya E., Poltavets N., Dlin V., Ignatova M. Renin-angiotensin system (RAS) gene polymorphism in children with steroid-resistant nephrotic syndrome. // *Pediatric Nephrology*. – 2004. – Vol.19. - №9. – Abstracts of 37<sup>th</sup> Meeting of European Society for Pediatric Nephrology. Bilbao, Spain. - P046. – P. 103.
2. **Приходина Л.С.**, Длин В.В. Мофетила микофенолат в лечении гломерулярных болезней: экспериментальные и клинические данные. // *Нефрология и диализ*. - 2005. – №1. – С. 25-31.
3. **Приходина Л.С.**, Заклязьминская Е.В., Полтавец Н.В., Длин В.В., Игнатова М.С., Поляков А.В. Влияние полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы на прогрессирование гормоно-резистентного нефротического синдрома у детей. // Материалы III Российского Конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии». - Москва, 2004. - С. 285.
4. Poltavets N., **Prikhodina L.**, Galeeva N., Tverskaya S., Zaklyazminskaya E., Polyakov A. Polymorphisms of genes predisposing to cardiovascular disorders in group patients with steroid-resistant nephrotic syndrome. // *European Journal of Human Genetics*. – 2005. - Vol.13. – Abstracts of European Human Genetics Conference, Prague. - P1137. – P. 328.
5. **Prikhodina L.**, Zaklyazminskaya E., Poltavets N., Ignatova M., Polaykov A. Genetic markers for progression of steroid-resistant nephrotic syndrome in childhood. // *Nephrology*. – 2005. - Vol.10. - Abstracts of World Congress of Nephrology, Singapore. - A246.
6. **Приходина Л.С.**, Заклязьминская Е.В., Полтавец Н.В., Поляков А.В., Игнатова М.С. Полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена-1 у детей с гормоно-резистентным нефротическим синдромом. // Сборник тезисов VI Съезда научного общества нефрологов России. - Москва, 2005. – С. 43.
7. **Prikhodina L.**, Zaklyazminskaya E., Poltavets N., Dlin V., Polyakov A., Ignatova M. Plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphism and progression of steroid-resistant nephrotic syndrome. // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2005. – Vol.20. – Abstracts of XLII Congress of the ERA-EDTA, Istanbul, Turkey. - P.265.
8. **Prikhodina L.**, Zaklyazminskaya E., Poltavets N., Polyakov A., Ignatova M. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism in progression of steroid-resistant nephrotic syndrome. // *Pediatric Nephrology*. - 2005. – Vol. 20. - Abstracts of 38<sup>th</sup> Annual Meeting of European Society



for Pediatric Nephrology, Istanbul, Turkey. - P304. – P. 85.

9. **Приходина Л.С.**, Заглязьминская Е.В., Полтавец Н.В., Поляков А.В., Игнатова М.С. Роль полиморфизма гена оксида азота (NO) в прогрессировании стероид-резистентного нефротического синдрома у детей. // Нефрология и диализ. – 2005. – № 3. – Материалы VI Съезда научного общества нефрологов России, Москва. - С.386.
10. **Приходина Л.С.**, Лизунова О.В., Длин В.В., Турпитко О.Ю., Катышева О.Ю., Никишина Т.А., Лепаева Т.В., Варшавский В.А., Проскурнева Е.П., Игнатова М.С. Клинико-морфологические предикторы прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей. // Материалы IV Российского Конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии». - Москва, 2005. - С. 199.
11. Фокеева Е.В., **Приходина Л.С.**, Игнатова М.С., Турпитко О.Ю. Эффективность лечения гломерулонефрита у детей сверхвысокими дозами циклофосфана. // Материалы IV Российского Конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии». - Москва, 2005. - С. 204.
12. Полтавец Н.В., **Приходина Л.С.**, Галеева Н.М., Тверская С.М., Заглязьминская Е.В., Поляков А.В. Исследование аллельных вариантов генов предрасположенности сосудистой патологии в группе больных стероидрезистентной формой гломерулонефрита. // Медицинская генетика. – 2005. - №6. - Материалы V Съезда Российского Общества медицинских генетиков. Уфа. – С. 253.
13. **Приходина Л.С.**, Длин В.В., Турпитко О.Ю., Катышева О.В., Лепаева Т.В., Агапов Е.Г., Никишина Т.А., Игнатова М.С. Первый опыт использования мофетила микофенолата в лечении гломерулонефрита у детей. // Нефрология и диализ. - 2006. - №1. – С. 55-59.
14. Полтавец Н.В., **Приходина Л.С.**, Галеева Н.М., Тверская С.М., Заглязьминская Е.В., Длин В.В., Игнатова М.С., Поляков А.В. Генетические аспекты наследственной формы нефротического синдрома. // Медицинская генетика. – 2006. - №9. – С. 44-48.
15. **Prikhodina L.**, Dlin V., Turpitko O., Katysheva O., Lepaeva T., Agapov E., Nikishina T., Ignatova M. Mucophenolate mofetil in the treatment of steroid-resistant nephrotic syndrome in children. // Pediatric Nephrology. – 2006. – Vol. 21. - №10. - Abstracts of 39<sup>th</sup> Annual Meeting of European Society for Pediatric Nephrology. Palermo, Italy. - P345. - P. 1608.
17. **Prikhodina L.**, Poltavets N., Zaklyazminskaya E., Galeeva N., Tverskay S., Polyakov A., Dlin V., Ignatova M. Methylentetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) 677C-T gene polymorphism and progression of steroid-resistant nephrotic syndrome in children. // Pediatric Nephrology. – 2006. - Vol 21. - №10. - Abstracts of the 39<sup>th</sup> Annual Meeting of European Society for Pediatric Nephrology. Palermo, Italy. - OP43. - P. 1517.
18. **Приходина Л.С.**, Длин В.В., Турпитко О.Ю., Катышева О.В., Лепаева Т.В., Агапов Е.Г., Никишина Т.А., Игнатова М.С. Применение мофетила микофенолата в лечении гломерулонефрита у детей. // Материалы V Конгресса нефрологов России. - Воронеж, 2006. – С. 183-184.
19. **Приходина Л.С.**, Полтавец Н.В., Заглязьминская Е.В., Галеева Н.М., Тверская С.М., Поляков А.В., Длин В.В. Игнатова М.С. Поиск мутаций в гене подоцина *NPHS2* у детей со спорадическим стероид-резистентным нефротическим синдромом. // Материалы V Конгресса нефрологов России. - Воронеж, 2006. – С. 185-186.
20. Игнатова М.С., Длин В.В., Фокеева Е.В., Обухова В.А., **Приходина Л.С.**, Турпитко О.Ю. Иммуносупрессанты общего и селективного действия при лечении детей с гломерулонефритом, протекающим с нефротическим синдромом. // Материалы V

Конгресса нефрологов России. - Воронеж, 2006. – С. 95-96.

21. Фокеева Е.В., Игнатова М.С., Длин В.В., Османов И.М., **Приходина Л.С.**, Турпитко О.Ю. Эффективность лечения гломерулонефрита с гормонорезистентным нефротическим синдромом сверхвысокими дозами циклофосфана у детей. // *Материалы V Конгресса нефрологов России. - Воронеж, 2006. – С. 239-240.*
22. Игнатова М.С., Длин В.В., **Приходина Л.С.**, Шатохина О.В. Нефротический синдром у детей. / *Справочник нефролога. М.: Оверлей, 2006. – 48 с.*
23. Длин В.В., **Приходина Л.С.** Рациональная фармакотерапия гломерулонефрита у детей с позиций доказательной медицины. / *Справочник нефролога. М.: Оверлей, 2006. – 64 с.*
24. **Приходина Л.С.**, Полтавец Н.В., Захлязьминская Е.В., Галеева Н.М., Тверская С.М., Поляков А.В., Длин В.В., Игнатова М.С. Полиморфизм гена метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР) и прогрессирование стероид-резистентного нефротического синдрома у детей. // *Материалы V Российского Конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии». - Москва, 2006. - С. 263-264.*
25. Shatochina O.V., Osmanov I.M., Ignatova M.S., **Prihodina L.S.**, Nevstrueva V.V., Katysheva O.V., Nikishina T.A., Turpitko O.J. Nephrotic syndrome in children with genetic syndrome. // *Pediatric Nephrology. – 2006. – Vol. 21. - №10. - Abstracts of 39<sup>th</sup> Meeting of European Society for Pediatric Nephrology. Palermo, Italy. - PP66. – P. 1538.*
26. **Prihodina L.**, Poltavets N., Galeeva N., Zaklyazminskaya E., Dlin V., Polyakov A., Ignatova M. Podocin gene (*NPHS2*) mutations in children with sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome. // *Pediatric Nephrology. – 2007. - Vol 22. - №9. - Abstracts of XIV Meeting of International Pediatric Nephrology Association. Budapest, Hungary. - P306. – P. 1486.*
27. Длин В.В., **Приходина Л.С.** Хронический гломерулонефрит. / *Рациональная фармакотерапия детских заболеваний. Руководство для практических врачей под ред. Баранова А.А., Володина Н.Н., Самсыгиной Г.А. – М.: Литера, 2007. - С. 1001-1015.*
28. **Приходина Л.С.**, Полтавец Н.В., Галеева Н.М., Захлязьминская Е.В., Поляков А.В., Длин В.В., Игнатова М.С. Скрининг мутаций в гене подоцина (*NPHS2*) у детей со sporadическим стероид-резистентным нефротическим синдромом. // *Нефрология и диализ.* – 2007. - Т.9. - №4. – С. 434-438.
29. Игнатова М.С., Шатохина О.В., **Приходина Л.С.** Значение генетики и протеомики в понимании развития и прогрессирования нефротического синдрома у детей. // *Нефрология и диализ.* – 2007. - Т.9. - №4. – С. 401-407.
30. **Приходина Л.С.**, Полтавец Н.В., Захлязьминская Е.В., Галеева Н.М., Поляков А.В., Длин В.В., Игнатова М.С. Исследование мутаций в гене подоцина (*NPHS2*) у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом. // *Материалы VI Конгресса педиатров-нефрологов России. - Москва, 2007. - С. 97.*
31. Длин В.В., **Приходина Л.С.**, Шатохина О.В. Нефротический синдром. / *Диагностика и лечение нефропатий у детей. Под ред. Игнатовой М.С., Коровиной Н.А. - М.: Геотар-Медиа, 2007. – С. 102-142.*
32. **Приходина Л.С.**, Полтавец Н.В., Галеева Н.М., Захлязьминская Е.В., Поляков А.В., Длин В.В., Игнатова М.С. Имеется ли взаимосвязь между полиморфизмом гена активатора ингибитора плазминогена-1 *4G/5G* и прогрессированием sporadического стероид-резистентного нефротического синдрома у детей? // *Нефрология и диализ. - 2007. - Т.9. - №3. - Материалы VI Конгресса педиатров-нефрологов России. Москва. - P. 358-359.*

33. Poltavets N.V., **Prikhodina L.S.**, Ryzhkova O.P., Zaklyazminskaya E.V., Polyakov A.V. The investigation of *NPHS2* gene coding region in group with Hereditary Proteinuria Syndromes. // *Europ J Hum Genet.* – 2007. - Vol.15. - Abstracts of European Human Genetics Conference, Nice, France. - P0206. - P. 80-81.
34. Длин В.В., Османов И.М., **Приходина Л.С.**, Юрьева Э.А. Гломерулонефрит у детей. // *Диагностический справочник нефролога.* – М.: Оверлей. – 2007. – С. 271 – 309.
35. Фокеева Е.В., Игнатова М.С., Длин В.В., **Приходина Л.С.**, Катышева О.В., Лепашева Т.В., Никишина Т.А., Османов И.М., Конькова Н.Е., Агапов Е.Г. Эффективность пульс-терапии циклофосфаном при гломерулонефрите у детей. // *Материалы Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной нефрологии»* Пленум правления научного общества нефрологов России. - Москва, 2007. - С. 70.
36. **Prikhodina L.**, Poltavets N., Zaklyazminskaya E., Galeeva N., Dlin V., Polyakov A., Ignatova M. Angiotensin converting enzyme (*ACE*) gene *I/D* polymorphism influence on progression of pediatric steroid-resistant nephrotic syndrome. // *Abstracts of 10<sup>th</sup> Asian Congress of Pediatric Nephrology “Innovation in Prevention and Therapeutic Strategies”.* - Bangkok, Thailand, 2008. - A-071.
37. Игнатова М.С., Длин В.В., Турпитко О.Ю., Лебеденкова М.В., **Приходина Л.С.**, Шатохина О.В., Конькова Н.Е., Обухова В.А. Хронические болезни почек: точка зрения педиатров. // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* – 2008. - №6. - С. 4-10.
38. **Приходина Л.С.**, Агапов Е.Г., Невструева В.В., Турпитко О.Ю., Зверев Д.В., Каабак М.М., Длин В.В., Игнатова М.С. Инфантильный нефротический синдром у ребенка с олигонефронией и дизгенезией гонад. // *Нефрология и диализ.* – 2008. - Т.10. - №1. – С. 67-72.
39. Длин В.В., **Приходина Л.С.** Гломерулонефрит у детей. / Ребенок и лекарство. Справочное пособие для врачей. – М.: Оверлей, 2008. – С. 431-457.
40. **Приходина Л.С.**, Длин В.В., Турпитко О.Ю., Невструева В.В., Игнатова М.С. Клинические предикторы прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей. // *Материалы VII Конгресса «Новые технологии в педиатрии и детской хирургии».* - Москва, 2008. – С. 247.
41. **Prikhodina L.**, Dlin V., Turpitko O., Ignatova M. Long-term prognostic factors of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) in children. // *Pediatric Nephrology.* - 2008. - Vol. 23. - №9. Abstracts of 40<sup>th</sup> Annual Meeting of European Society for Pediatric Nephrology. Lyon, France. - P158. - P. 1636.
42. **Приходина Л.С.**, Полтавец Н.В., Длин В.В., Поляков А.В., Игнатова М.С. Полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента и прогрессирование стероид-резистентного нефротического синдрома у детей. // *Материалы VII Конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии».* - Москва, 2008. – С. 248.
43. **Prikhodina L.**, Dlin V., Ignatova M. Whether low birth weight contributes to progression of steroid-resistant nephrotic syndrome in children? // *Abstracts on CD-ROM.* - World Congress of Nephrology. - Milan, Italy, 2009. - Su721.
44. **Prikhodina L.**, Dlin V., Turpitko O., Ignatova M. Immunosuppressive treatment and the long-term outcome of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome in children: a 10-year single centre experience. // *Abstracts on CD-ROM.* - World Congress of Nephrology. – 2009. - Milan, Italy. - Su751.

45. **Приходина Л.С.,** Длин В.В., Игнатова М.С. Риск прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей ассоциирован с малой массой тела при рождении. // Нефрология. – 2009. – Т.13. - №3. - Материалы Всероссийского Конгресса нефрологов (Санкт-Петербург, 2009) - С.94.
46. **Prikhodina L.,** Dlin V., Ignatova M. Is obesity associated with increased risk for progression of steroid-resistant nephrotic syndrome in children? // Abstracts of 43<sup>rd</sup> Annual Meeting of the European Society for Pediatric Nephrology. – Birmingham, UK, 2009. - FRI018. – P. 48.
47. **Приходина Л.С.,** Лебеденкова М.В., Виноградова Т.В., Полтавец Н.В., Поляков А.В., Длин В.В. Имеется ли взаимосвязь полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы (C677T) и гипергомоцистеинемии у детей с гломерулонефритом? // Материалы VIII Конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии». - Москва, 2009. – С. 248.
48. **Приходина Л.С.,** Длин В.В., Игнатова М.С. Роль ожирения в прогрессировании стероид-резистентного нефротического синдрома у детей. // Нефрология и диализ. – 2009. - Т.11. - №4. - Материалы VI Конференции Российского Диализного Общества. Москва. - С. 367.
49. **Приходина Л.С.,** Длин В.В. Хронический гломерулонефрит. / Педиатрия. Национальное руководство под ред. Баранова А.А. - М.: Геотар-Медиа, 2009. - Т.1. – С. 636-651.
50. Игнатова М.С., Длин В.В., **Приходина Л.С.** Лечение первичного нефротического синдрома. / Диагностика и лечение нефротического синдрома у детей. Руководство для врачей под ред. Игнатовой М.С., Шатохиной О.В. - М.: Медицинское информационное агентство, 2009. - С. 112-140.
51. **Приходина Л.С.,** Длин В.В., Игнатова М.С. Риск прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей ассоциирован с малой массой тела при рождении. // Нефрология и диализ. – 2010. - Т.12. - №.1. - С. 39-45.
52. **Приходина Л.С.,** Агапов Е.Г., Невструева В.В., Турпитко О.Ю., Зверев Д.В., Каабак М.М., Длин В.В., Игнатова М.С. Олигонекрозия и дизгенезия гонад у ребенка с инфантильным нефротическим синдромом. / Сложные диагностические случаи в практике детского врача. Руководство для врачей под ред. Царегородцева А.Д., Длин В.В. - М.: ООО «Пресс-Арт», 2010. - С. 151-161.
53. **Приходина Л.С.,** Длин В.В., Игнатова М.С. Гломерулонефрит. / Фармакотерапия детских болезней. Руководство для врачей под ред. Царегородцева А.Д. - М.: Медицинское информационное агентство, 2010. - С. 735-754.
54. **Prikhodina L.,** Dlin V., Turpitko O., Ignatova M. Tacrolimus therapy in children with steroid-resistant nephrotic syndrome. // Pediatric Nephrology. – 2010. – Vol. 25. - №433. - Abstracts of 15<sup>th</sup> Congress of the International Pediatric Nephrology Association. - New York, USA. - #433. – P. 1881.
55. **Prikhodina L.,** Vinogradova T., Poltavets N., Polyakov A., Dlin V. Hyperhomocysteinaemia and *MTHFR C677T* gene polymorphism in children with steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS). // Pediatric Nephrology. – 2010. – Vol. 25. - №433. - Abstracts of 15<sup>th</sup> Congress of the International Pediatric Nephrology Association. - New York, USA. - #432. – P. 1881.
56. **Приходина Л.С.,** Турпитко О.Ю., Длин В.В., Игнатова М.С. Такролимус в лечении стероид-резистентного нефротического синдрома у детей (предварительные результаты одноцентрового исследования). // Нефрология и диализ. – 2010. - Т.12. - №4. – P. 266-272.

57. **Prikhodina L.**, Ryzhkova O., Polyakov A. No association between *NPHS1* gene polymorphism and progression of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) in children. // Abstracts of International Society of Nephrology Nexus Symposium on Fibrosis and the Kidney. - Geneva, Switzerland, 2010. - PO-035. – P. 13.
58. **Приходина Л.С.**, Турпитко О.Ю., Длин В.В., Игнатова М.С. Первые результаты применения такролимуса при стероид-резистентном нефротическом синдроме у детей. // Материалы VII Съезда научного общества нефрологов России. - Москва, 2010. – С. 95.
59. **Приходина Л.С.**, Виноградова Т.В., Полтавец Н.В., Поляков А.В., Длин В.В. Гипергомоцистеинемия и полиморфизм гена метилентетрагидрофолатредуктазы (*МТГФР С677Т*) при стероид-резистентном нефротическом синдроме у детей. // Материалы VII Съезда научного общества нефрологов России. - Москва, 2010. – С. 96.
60. **Приходина Л.С.** Лечение нефротического синдрома с минимальными изменениями. // Сборник лекций международной школы International Pediatric Nephrology Association, European Society for Pediatric Nephrology. - Оренбург, 2010. – С. 109-126.
61. **Приходина Л.С.** Лечение нефротического синдрома с минимальными изменениями. Материалы международной школы и научно-практической конференции по детской нефрологии «Актуальные проблемы детской нефрологии». - Оренбург, 2010. - С. 147-157.
62. **Prikhodina L.**, Ryzhkova O., Poltavets N., Polyakov A., Dlin V. Whether transient receptor potential cation channel-6 (*TRPC6*) gene polymorphism contributes to progression of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome in children? // Abstracts on CD-ROM. - World Congress of Nephrology. – 2011. - Vancouver, Canada. - MO139.
63. **Prikhodina L.**, Dlin V., Ignatova M. Clinical predictors of outcome of steroid-resistant nephrotic syndrome in children. // Abstracts on CD-ROM. - World Congress of Nephrology. – 2011. - Vancouver, Canada. - SU034.
64. **Приходина Л.С.**, Длин В.В., Игнатова М.С. Гломерулонефрит первичный. / Детская нефрология. Руководство для врачей под ред. Игнатовой М.С. - М.: Медицинское информационное агентство, 2011. – С. 263-296.
65. Игнатова М.С., **Приходина Л.С.** Прогрессирование болезней почек у детей и возможные пути ренопротекции. / Детская нефрология. Руководство для врачей под ред. Игнатовой М.С. - М.: Медицинское информационное агентство, 2011. – С. 515-528.
66. **Prikhodina L.**, Ignatova M. Proteinuria rate is early predictor of steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) progression in children. // Abstracts of International Society of Nephrology Nexus Symposium on Proteinuria. - Aarhus, Denmark, 2011. - PO-042. – P. 25.
67. **Prikhodina L.**, Dlin V., Ignatova M. Predictors of long-term outcome of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) in children. // Pediatric Nephrology. – 2011. – Vol. 26. – Abstracts of 44<sup>th</sup> Meeting of the European Society for Pediatric Nephrology. - Dubrovnik, Croatia. - PS2-Fri-183. – P. 1653.
68. **Prikhodina L.**, Ryzhkova O., Polyakov A. *NPHS1 c.349G>A* polymorphism is not associated with progression of idiopathic childhood steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS). // Pediatric Nephrology. – 2011. – Vol. 26. – Abstracts of 44<sup>th</sup> Meeting of the European Society for Pediatric Nephrology. - Dubrovnik, Croatia. - PS2-Fri-182. – P. 1652.
69. **Приходина Л.С.**, Рыжкова О.П., Поляков А.В., Длин В.В. Эффективность гипотензивной терапии ассоциирована с полиморфизмом гена ангиотензиногена *AGT (M235T)* у детей со стероид-резистентным нефротическим синдромом. // Материалы X Конгресса

«Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии». - Москва, 2011. – С. 217-218.

70. **Приходина Л.С.,** Рыжкова О.П., Поляков А.В. Полиморфные маркеры гена нефрина (*NPHSI*) у детей со спорадическим стероид-резистентным нефротическим синдромом у детей. // Нефрология и диализ. – 2011. - Т.13. - №3. – Материалы VI Конференции Российского Диализного Общества. - Москва. - С. 346.
71. **Приходина Л.С.,** Длин В.В. Выраженность протеинурии – ранний предиктор прогрессирования стероид-резистентного нефротического синдрома у детей. // Нефрология и диализ. – 2011. - Т.13. - №3. – Материалы VI Конференции Российского Диализного Общества. - Москва.– С. 346.
72. **Приходина Л.С.,** Турпитко О.Ю., Длин В.В., Игнатова М.С. Микофенолата мофетил в лечении стероид-резистентного нефротического синдрома у детей. // Клиническая нефрология. – 2011. - №2. – Материалы Конференции педиатров-нефрологов Северо-Западного Федерального округа. – Санкт-Петербург. – С. 56-60.
73. **Приходина Л.С.,** Длин В.В., Игнатова М.С. Структура хронической почечной недостаточности (ХПН) у детей: 5-летнее одноцентровое исследование. // Педиатр. - 2011. - Т.2. - №1. - Материалы конференции педиатров-нефрологов Северо-Западного федерального округа. – М80. - С. 80.
74. **Приходина Л.С.,** Рыжкова О., Поляков А.В. Полиморфные маркеры гена нефрина (*NPHSI*) при спорадическом стероид-резистентном нефротическом синдроме у детей. // Нефрология и диализ. – 2012. - Т.14. - №1. – С. 56-62.
75. **Prikhodina L.,** Ryzhkova O., Polyakov A. Whether *NPHSI* gene polymorphism *c.349G>A* contributes to efficacy of immunosuppressive treatment of steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) in children? // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2012. - Vol.27. - Abstracts of 49<sup>th</sup> Meeting of the European Renal Association - European Dialysis and Transplant Association. - Paris, France. – SAP250. – P. 324.

#### ПАТЕНТ

**Приходина Л.С.,** Длин В.В., Игнатова М.С., Турпитко О.Ю., Невструева В.В. Способ прогнозирования прогрессирующего течения стероид-резистентного нефротического синдрома при гломерулонефрите у детей. / Патент РФ на изобретение № 2414852. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений РФ 27.03.2011 г.

#### НОВАЯ МЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

**Приходина Л.С.,** Длин В.В., Полтавец Н.В., Рыжкова О.П., Поляков А.В., Невструева В.В., Игнатова М.С. Прогнозирование течения стероид-резистентного нефротического синдрома у детей на основании полиморфных вариантов гена ингибитора активатора плазминогена-1. / Новая медицинская технология, зарегистрированная в ФС № 2011/034 11.01.2011 г.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

<i>ACE</i>	ангиотензин-превращающий фермент
<i>AGT</i>	ангиотензиноген
<i>AGTR1</i>	рецептор 1-го типа к ангиотензину II
AUC	площадь над характеристической кривой
<i>eNOS</i>	эндотелиальная синтаза оксида азота
HGMD	Human Gene Mutation Database (каталог генетических мутаций человека)
<i>MTHFR</i>	метилентетрагидрофолатредуктаза
NCBI SNP	National Center for Biotechnology Information Single Nucleotide Polymorphism database (каталог простых нуклеотидных полиморфизмов генов)
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man (каталог наследственных заболеваний человека)
<i>PAI-1</i>	ингибитор активатора плазминогена 1-го типа
АГ	артериальная гипертензия
АД	артериальное давление
в/в	внутривенно
ВОЗ	Всемирная Организация здравоохранения
ДАД	диастолическое артериальное давление
ДИ	доверительный интервал
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
и-АПФ	ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента
ММФ	микофенолата мофетил
МН	мембранозная нефропатия
МзПГН	мезангио-пролиферативный гломерулонефрит
МбПГН	мембрано-пролиферативный гломерулонефрит
МРИ	массо-ростовой индекс
НСМИ	нефротический синдром с минимальными изменениями
ОМС	органы мочевой системы
ОППР	отношение правдоподобия положительного результата
ОР	отношение рисков
ОШ	отношение шансов
ПЦОР	прогностическая ценность отрицательного результата
ПЦПР	прогностическая ценность положительного результата
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РКИ	рандомизированные контролируемые исследования
САД	систолическое артериальное давление
СКФ	скорость клубочковой фильтрации
СМАД	суточное мониторирование артериального давления
СРНС	стероид-резистентный нефротический синдром
УЗИ	ультразвуковое исследование
ФСГС	фокально-сегментарный гломерулосклероз
ХБП	хроническая болезнь почек
ХПН	хроническая почечная недостаточность