

На правах рукописи

Комарова Ольга Викторовна

**КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ
ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ**

14.01.08 - Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва - 2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный центр здоровья детей» Российской академии медицинских наук

Научный консультант:

Доктор медицинских наук, профессор

Алексей Николаевич Цыгин

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава РФ

Ирина Николаевна Захарова

Доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии лечебного факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ

Светлана Стояновна Паунова

Доктор медицинских наук, заведующий кафедрой педиатрии ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации» Федерального медико-биологического агентства РФ

Нурали Зоирович Зокиров

Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава РФ

Защита состоится «__» декабря 2014 года в «__» часов на заседании диссертационного совета Д 001.023.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный центр здоровья детей» РАМН по адресу 119991, Москва, Ломоносовский проспект, 2 стр.1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр здоровья детей» РАМН по адресу: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, 2 стр.1 и на сайте <http://www.nczd.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2014 года.

Ученый секретарь диссертационного совета

Доктор медицинских наук

И.В. Винярская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность

Медицинская и социальная значимость проблемы хронических заболеваний почек определяется большой распространенностью патологии в детской и взрослой популяции, серьезным риском развития кардиоваскулярных осложнений, высоким уровнем летальности, а также необходимостью применения дорогостоящих методов заместительной терапии (Coresh J., 2008, Баранов А.А., Сергеева Т.В., Игнатова М.С., 2009, Бикбов Б.Т., Couser W., 2011, Honeycutt J.E., 2013, Noone D., 2014).

Достижения современной нефрологии, накопленный мировой опыт ведения пациентов разного возраста с патологией почек позволили определить общность как в факторах риска развития и прогрессирования патологии, так и в терапевтических подходах, направленных на замедление развития склеротических процессов в почках (Brenner B. M., 1983, Ратнер М.Я., 1997, Hillege H.L., 2002, Томилина Н.А., 2004, Цыгин А.Н., 2005, Fogo A.B., 2007). Это привело к созданию унифицированной концепции хронической болезни почек (National Kidney Foundation.K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease, 2002). Под термином «Хроническая болезнь почек» (ХБП) подразумевают наднозологическое понятие, объединяющее всех больных с сохраняющимися в течение 3 и более месяцев признаками повреждения почек по данным лабораторных и инструментальных исследований и/или со снижением фильтрационной функции в те же сроки (Levey A.S., 2007, V.L. Levin A., 2014).

Именно потенциальная возможность утраты функции почек позволяет адекватно оценить вероятность и риски развития неблагоприятных исходов болезни, что особенно важно для пациентов детского возраста (Иванов Д.Д., 2007, Hogg R.J., 2009, McLaughlin M.J., 2013).

Для оценки прогноза ХБП и своевременного применения превентивных терапевтических возможностей крайне важной задачей является установление темпов прогрессирования нефропатий и выявление ранних клинических и биохимических маркеров развития нефросклероза (Fried L., 2004, Валов А.Л., 2006, Celedon C.G., 2007, Soares C.M., 2008, Cerqueira D.C., Caltik, 2014).

Патофизиологической основой формирования нефросклероза является гибель в результате апоптоза функционально значимых клеток почечной ткани, а также накопление в клубочках и интерстиции компонентов экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ). Дисбаланс синтеза и распада компонентов ЭЦМ обусловлен нарушением активности протеолитических матриксных металлопротеиназ (ММП) (Hughes J., Паунова С.С., 2005, Catania J.M., 2007, Ли О.А., 2009, Uramatsu T., 2013).

Среди индукторов данных процессов рассматриваются провоспалительные и просклеротические хемокины, факторы эндотелиальной дисфункции. Однако, до настоящего времени недостаточно изучены регуляторные про- и противосклеротические механизмы, определяющие баланс клеточной массы и компонентов внеклеточного матрикса. В связи с этим актуальным является более детальное изучение механизмов регуляции формирования склеротических изменений при хронической патологии почек у детей и выявление информативных показателей, отражающих как индукцию, так и замедление развития нефросклероза.

С клинической точки зрения критерием прогрессирования ХБП является снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) - главного параметра оценки функционального состояния почек (Наумова В.И., 1991, Мухин Н.А., 2007, Schwartz G.J., 2009, Levey A.S., 2014). Выделяют 5 стадий ХБП: первая — СКФ > 90 мл/мин/1,73м², вторая — СКФ 60-89 мл/мин/1,73м², третья — СКФ 30-59 мл/мин/1,73м², четвертая — СКФ 15-29 мл/мин/1,73м², пятая — СКФ < 15 мл/мин/1,73м². Данная классификация успешно применяется во взрослой нефрологии и лишь обсуждается для внедрения в педиатрии (Hogg R.J., 2003, Смирнов А.В., 2005, Мак R.H., 2007, Bauer C., 2008).

В клинической практике нефролога фильтрационную функцию почек принято оценивать по сывороточному уровню эндогенного креатинина и рассчитывать СКФ по специальным математическим формулам в зависимости от содержания креатинина с учетом дополнительных факторов - роста, веса, возраста пациента (Sirwal I.A., 2004, Новикова М.С., 2010, Dias A.H., Evans M., 2013, Filler G., Siddique K., 2014). В педиатрической практике используется формула, предложенная в 1976 г. Шварцем (Schwartz G.J., 1976).

В последние годы возрос интерес нефрологов к альтернативному маркеру оценки состояния фильтрационной функции почек - белку генетического семейства цистатинов, ингибитору протеаз цистатину С (ЦсС) (Perkins В.А., 2005, Резниченко Н.Е., 2009, Wu С.К., 2010, Peralta С.А., 2011, Ситникова В.П., 2013). Цистатин С отвечает основным требованиям для оценки фильтрации: свободно фильтруется в клубочках, не реабсорбируется и не секретируется в канальцах (Вельков В.В., 2010, Rule А.Д., 2011, Каюков И.Г., 2012). Большинство исследовательских работ демонстрирует достоверно более высокую значимость цистатина С как маркера функции почек, особенно при начальных проявлениях почечной недостаточности (Dharnidharka V.R., 2002, Christensson А., 2003, Krawczeski С.Д., Soto К., 2010, Sharma А. Р., 2011, Lezaic V., 2014). Однако, в отечественной педиатрической нефрологической практике определение цистатина С в сыворотке крови для оценки функций почек еще не нашло широкого применения.

Таким образом, настоящее исследование направлено на выявление прогностически значимых клинических и молекулярных маркеров прогрессирования болезней почек у детей, необходимых для своевременной диагностики и персонализированного лечения данной категории больных.

Цель исследования: установить патофизиологические механизмы и способы оценки прогрессирования хронической болезни почек у детей для оптимизации единых подходов к терапевтической тактике, направленной на замедление темпов снижения почечных функций.

Задачи исследования:

1. Адаптировать концепцию хронической болезни почек к практике педиатрической нефрологии.
2. Установить клинические критерии достижения необратимой стадии хронической болезни почек у детей с нефропатиями иммунного и неиммунного генеза.
3. Определить прогностически значимые показатели, определяющие почечную выживаемость у детей с хронической болезнью почек.

4. Изучить содержание в сыворотке крови ключевых патофизиологических маркеров развития нефросклероза, отражающих процессы апоптоза клеток почечной ткани и нарушение протеолитической активности ферментов экстрацеллюлярного матрикса.

5. Выявить наиболее ранние просклеротические биомаркеры прогностически неблагоприятного течения нефропатий у пациентов детского возраста.

6. Охарактеризовать участие эндотелиальной дисфункции в прогрессировании различных нозологических форм ХБП у детей.

7. Обосновать целесообразность использования сывороточного уровня цистатина С в качестве альтернативного маркера фильтрационной функции почек в рутинной практике детского нефролога для своевременной оценки возможного нефротоксического действия проводимой фармакотерапии и для прогноза исхода болезни.

8. Определить наиболее эффективные терапевтические меры, направленные на замедление прогрессирования прогностически неблагоприятных вариантов иммунной и неиммунной патологии почек.

Научная новизна

Впервые на репрезентативной выборке пациентов в возрасте от 1 до 17 лет проведено комплексное исследование совокупности клинических и молекулярных аспектов прогрессирования хронической болезни почек у детей.

При ретроспективном анализе 145 историй болезней детей впервые обоснована универсальность воздействия клинических факторов прогрессирования протеинурии и артериальной гипертензии на скорость развития склеротических изменений в почечной ткани. Впервые показано, что при прогностически неблагоприятных формах первичного нефротического синдрома с морфологической основой фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС) и мембранопролиферативный гломерулонефрит (МПГН) длительность периода до начала необратимых склеротических изменений определяется адекватностью

коррекции этих факторов в условиях патогенетической иммуносупрессивной и гипотензивной терапии.

Впервые установлено, что при достижении ремиссии фокально-сегментарного гломерулосклероза и мембранопролиферативного гломерулонефрита в 100% случаев отсутствует снижение СКФ через три, пять и семь лет от дебюта болезни. Частота ремиссии первичного нефротического синдрома обусловлена выбором адекватных режимов иммуносупрессивной терапии - циклосприном А при фокально-сегментарном гломерулосклерозе и мофетила микофенолатом при мембранопролиферативном гломерулонефрите. При отсутствии эффекта от проводимой иммуносупрессивной терапии трехлетняя почечная выживаемость установлена у 80% больных с фокально-сегментарным гломерулосклерозом и мембранопролиферативным гломерулонефритом, пятилетняя почечная выживаемость выявлена у 70% детей с ФСГС и у 60% детей с МПГН, семилетняя - только у половины таких пациентов.

Впервые дано доказательное обоснование целесообразности раннего назначения ингибиторов АПФ у детей с неиммунными нефропатиями не только с гипотензивной, но и антипротеинурической целью, т.к. данная нефропротективная терапия позволяет значительно снизить темпы прогрессирования патологии как при протеинурии более 1 г/сут, так и при протеинурии менее 1г/сут. Впервые продемонстрирована более высокая почечная выживаемость у детей с неиммунными нефропатиями в условиях приема ингибиторов АПФ в сравнении со средними показателями во всей группе детей с данной патологией: через 5 лет - 95% и 80%, через 7 лет - 90% и 70% соответственно.

На основании широкого спектра исследований молекулярных маркеров рецепторного и митохондриального путей реализации апоптоза, регуляторов состояния внеклеточного матрикса - матриксных металлопротеиназ и их ингибитора, просклеротических молекулярных индукторов и показателей эндотелиальной дисфункции, тесно взаимосвязанных между собой, доказано единство патофизиологических процессов прогрессирования иммуноопосредованной и неиммунной почечной патологии у детей.

Впервые обоснована целесообразность использования цистатина С как высокочувствительного предиктора снижения фильтрационной функции почек. Проведен лонгитудинальный анализ течения прогностически неблагоприятной хронической патологии почек у детей, который показал, что у детей с изначально высоким уровнем цистатина С в сыворотке крови при нормальном содержании креатинина крови в течение 5 лет отмечается прогрессирование патологии. Установлено прогностически значимое пороговое значение содержания цистатина С в сыворотке крови ≥ 1288 нг/мл, отражающее нарушение фильтрационной функции почек.

Впервые показано, что цистатин С является достоверным критерием нефротоксического действия циклоспорина А у детей с нефротическим синдромом.

Выявленные в работе закономерности позволили разработать уникальную модель оценки риска снижения СКФ по совокупности клинических (уровень протеинурии, артериальной гипертензии и гемоглобина крови), молекулярных (гиперпродукция фибронектина, ингибитора активатора плазменогена-1-АГ, тканевого ингибитора протеиназ-1, моноцитарного хемоаттрактивного протеина-1) и терапевтических (отсутствие нефропротективной терапии) критериев прогрессирования хронической почечной патологии.

Практическая значимость работы состоит в установлении частоты и скорости достижения необратимой стадии хронической болезни почек разной этиологии, что необходимо для перспективного прогнозирования течения и исходов ХБП у пациентов в детском возрасте. Определены универсальные факторы риска снижения СКФ (протеинурия и артериальная гипертензия) и способы замедления развития нефросклероза у детей (своевременное проведение антипротеинурической иммуносупрессивной и нефропротективной терапии, адекватная медикаментозная коррекция артериальной гипертензии).

Определены значимые молекулярные прогностические маркеры прогрессирования иммуноопосредованных и неиммунных нефропатий в детском возрасте, к которым относятся растворимая форма Fas-рецептора (сигнальный белок рецепторного пути реализации апоптоза), тканевой ингибитор

металлопротеиназ (фактор, регулирующий обмен внеклеточного матрикса), а также просклеротические хемокины (фибронектин, МХП-1 и ТФР- β 1).

Доказана целесообразность использования лабораторного показателя цистатина С в рутинной практике педиатра в качестве маркера фильтрационной функции почек и выявления нефротоксического эффекта циклоспорина А.

Разработана прогностическая модель оценки вероятности снижения СКФ у детей с хронической патологией почек.

Внедрение результатов исследования в практику. Основные научные положения, выводы и рекомендации настоящего исследования используются в научной и клинической работе нефрологического отделения НИИ педиатрии и отделения восстановительного лечения детей с нефро-урологическими заболеваниями, ожирением и метаболическими болезнями НИИ профилактической педиатрии ФГБНУ «Научный центр здоровья детей», ФГБУ «Республиканская детская клиническая больница» Минздрава РФ.

Результаты исследования используются в лекционных курсах кафедры педиатрии и детской ревматологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова и кафедры педиатрии педиатрического факультета ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова.

Апробация материалов диссертации. Результаты исследования и основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на V Конференции Российского диализного общества (Москва, 2007 г.), XVI Съезде педиатров России (Москва, 2009 г.), XIII Конгрессе педиатров России (Томск, 2009 г.), XVII Конгрессе педиатров (Москва, 2014 г.), Научно-практических конференциях Союза педиатров России (Калуга, 2009 г., Ханты-Мансийск, Ставрополь, (2010 г.), Якутск, Казань, (2011 г.), Красноярск, 2012 г.), Международной Конференции трансплантации органов (Москва, 2010 г.), V Российском форуме «здоровье детей: профилактика социально-значимых заболеваний» (Санкт-Петербург, 2011 г.), II Конгрессе педиатров Урала (Екатеринбург, 2012 г.), IX Региональной Поволжской научно-практической конференции педиатров (Ульяновск, 2013 г.), Неделе Нефрологии в Москве – 2013 (Москва, 2013 г.), III Европейском Конгрессе педиатров (Стамбул,

Турция, 2008), IV Европейском Конгрессе педиатров (Москва, 2009 г.), VI Европейском Конгрессе педиатров (Глазго, Великобритания, 2013 г.), XXVII Всемирном Конгрессе педиатров (Мельбурн, Австралия, 2013 г.), XVI Конгрессе международной ассоциации педиатров нефрологов (Шанхай, Китай, 2013 г.).

Публикации

Результаты исследования опубликованы в 60 работах, включая 20 статей в рецензируемых ВАК РФ журналах, 5 глав в монографиях.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 229 страницах, включая 28 таблиц и 25 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, описания объема и методов исследования, 5 глав собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций. Список литературы включает 401 источник, из них 80 отечественных и 321 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объем и методы исследования

Работа выполнена на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр здоровья детей» (директор — академик РАН, профессор А.А. Баранов) в нефрологическом отделении НИИ педиатрии Центра (заведующий отделением — профессор А.Н. Цыгин). Исследование было одобрено локальным независимым этическим комитетом ФГБУ НЦЗД. Все родители пациентов, участвующих в исследовании, подписывали информированное согласие на прием препаратов и обработку персональных данных.

В исследование были включены 290 детей: 271 ребенок с хронической патологией почек, госпитализированные в нефрологическое отделение НИИ педиатрии ФГБУ НЦЗД в период с 2003 г. по 2012 г. и 19 детей без признаков поражения почек в возрасте от 5 до 17 лет.

Настоящая работа объединила два параллельных исследования: ретроспективный анализ историй болезни для установления закономерностей

скорости прогрессирования хронической болезни почек и проспективный анализ и наблюдение за пациентами для выявления чувствительных клинико-молекулярных предикторов формирования нефросклероза.

В ретроспективный анализ было включено 145 детей (66 девочек, 79 мальчиков). Средний возраст пациентов составил 11 ± 4 лет. Средний период катамнестического наблюдения от дебюта болезни составил $7,7 \pm 3,9$ года, минимальный — 2 года, максимальный — 16 лет.

В рамках проспективного анализа были обследованы 126 пациентов (70 мальчиков и 56 девочек, средний возраст $9,9 \pm 5,0$ года) с прогностически благоприятными и неблагоприятными вариантами поражения почек на разных стадиях ХБП и 19 пациентов группы сравнения того же возраста.

Всем детям было проведено стандартизованное клинико-лабораторное обследование. У детей с иммуноопосредованными нефропатиями выполнялась чрескожная пункционная нефробиопсия с использованием ультразвуковой визуализации.

СКФ рассчитывалась по формуле Шварца с использованием значений коэффициента, применяемого при измерении сывороточного содержания креатинина в мкмоль/л (Schwartz G.J., 1987):

$$\text{СКФ} = \text{Рост (см)} / \text{Креатинин Сыв. (мкмоль/л)} \times \text{Коэффициент},$$

где Коэффициент равен 48,6 (дети 2–12 лет, девочки старше 12 лет) и 61,6 (мальчики старше 12 лет). Результат выражен в мл/мин/1,73 м².

Наличие и степень выраженности артериальной гипертензии (АГ) устанавливали с помощью критериев, предложенных Целевой группой по контролю артериального давления у детей (Task Force on Blood Pressure Control in Children; 4th edition, 2004): 1-я степень АГ: средние значения систолического АД и/или диастолического АД из трех измерений равны или превышают значения 95-го перцентиля, но меньше значений 99-го перцентиля + 5 мм рт.ст.; 2-я степень АГ: средние значения систолического АД и/или диастолического АД из трех измерений равны или превышают значения 99-го перцентиля более чем на 5 мм рт.ст.

Выборку пациентов для *ретроспективного анализа* представляли дети с прогностически неблагоприятными формами хронических нефропатий:

первичный нефротический синдром с морфологической основой фокально-сегментарный гломерулосклероз (n=65), первичный нефротический синдром с морфологической основой мембранопролиферативный гломерулонефрит 1-го типа (n=10) и неиммунные нефропатии (n=70). В эту группу вошли пациенты с болезнями почек, сопровождающиеся выраженным повреждением тулубоинтерстициального аппарата почки (рефлюкс-нефропатия, поликистоз почек, наследственный нефрит, нефронофтиз, тубулопатии) и дети с врожденными пороками развития почек и мочевых путей.

Ретроспективно оценка СКФ у данной группы пациентов проводилась с момента дебюта болезни до возраста достижения 3-й стадии ХБП или завершения наблюдения в педиатрическом стационаре (цензурированное наблюдение). Выбор 3-й стадии ХБП в качестве первой конечной точки в данном исследовании был обусловлен тем, что именно снижение СКФ ниже 60 мл/мин /1,73 м² отражает гибель более 50% функционирующих нефронов и тем самым становится показателем необратимости склеротических процессов в почечной ткани. Почечная выживаемость (в годах) была оценена по достижению 5-й стадии ХБП как второй конечной точки.

В рамках параллельно проводимого *проспективного анализа* были обследованы 126 пациентов с прогностически благоприятными и неблагоприятными вариантами поражения почек на разных стадиях ХБП.

Первоначально пациенты были распределены по группам (табл. 1), отвечающим стадиям хронической болезни почек в соответствии с клиническими рекомендациями для хронической болезни почек Национального почечного фонда США (NKF K/DOQI, 2002) и Российскими национальными рекомендациями по ХБП (Смирнов А.В. с соавторами, 2012).

Таблица 1.

Распределение по группам больных с ХБП, включенных в проспективный анализ

Группа	Стадия ХБП	Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м ²	Число пациентов
Первая	1	>90	97
Вторая	2	89–60	17
Третья	3–4	15–59	12

В зависимости от патогенетических особенностей течения нефропатий была проведена дальнейшая стратификация больных в зависимости от патогенетических особенностей течения болезни: с иммуноопосредованными гломерулопатиями (первичный нефротический синдром) и с неиммунными болезнями.

Дети с первичным нефротическим синдромом (НС) были представлены его прогностически благоприятным стероидзависимым (n=32) и неблагоприятным стероидрезистентным (n=55) вариантами. Стероидную зависимость (СЗ) определяли при развитии рецидива нефротического синдрома на фоне снижения дозы стероидов или в сроки до 2 недель после отмены преднизолона. Стероидрезистентность (СР) констатировали при отсутствии ответа на первоначальный курс стандартной стероидной терапии (преднизолон 2 мг/кг в сутки в течение 6 недель) в дебюте заболевания или при очередном рецидиве. Структура морфологических диагнозов у детей с стероидрезистентным НС представлена на рисунке 1.

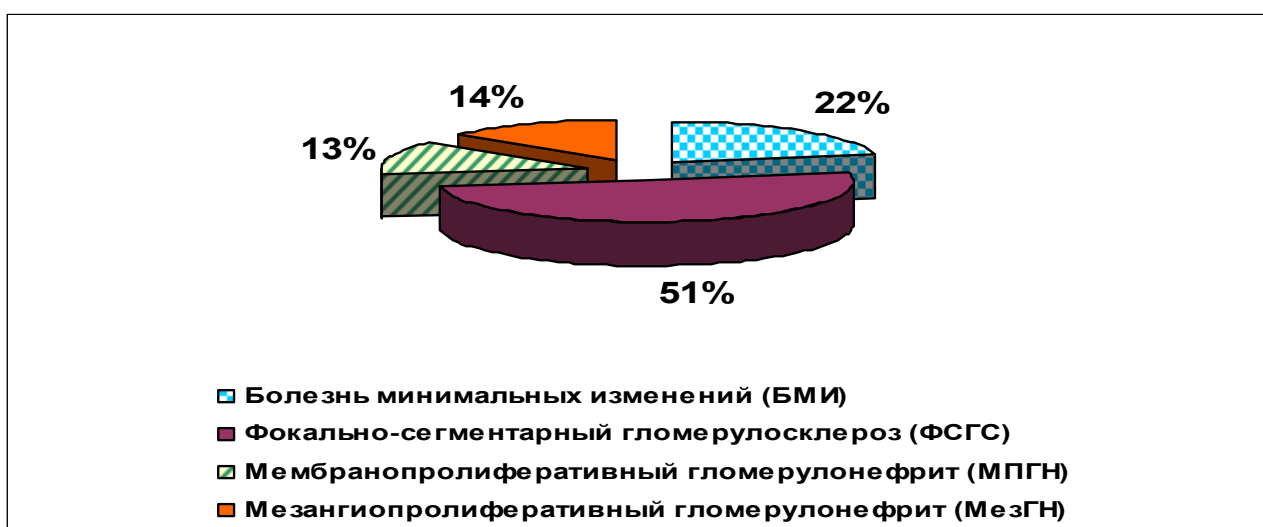


Рисунок 1. Спектр морфологических диагнозов у детей со стероидрезистентным нефротическим синдромом

В группу пациентов с неиммунными нефропатиями (n=39) были объединены дети с врожденными или приобретенными нарушениями клубочкового и/или канальцевого аппарата почки (наследственный нефрит, рефлюкс-нефропатия, нефросклероз в исходе гемолитико-уремического синдрома, тубулопатии).

В рамках проспективного анализа был разработан и выполнен комплекс исследований с количественным определением в сыворотке крови методом твердофазного энзимсвязанного иммуносорбентного анализа ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) сывороточных уровней показателей апоптоза [растворимые формы sFas-рецептора (sFas-R) и лиганда (sFas-L), цитохрома C, аннексина V], маркеров протеолиза (ММП-3, ММП-8, ММП-9, тканевого ингибитора металлопротеиназ-1), маркеров эндотелиальной дисфункции [эндотелин-1 (ЭТ-1), антиген ингибитора активатора пламиногена (ПАИ-1-АГ), оксид азота], просклеротических агентов [трансформирующий фактор роста β 1 (ТФР- β 1), моноцитарный хемоаттрактивный протеин-1 (МХП-1), фибронектин] и цистатина С — маркера фильтрационной функции почек. Определение указанных показателей было осуществлено в лаборатории патофизиологии с блоком радионуклидных исследований ФГБУ НЦЗД (заведующий — профессор И.Е. Смирнов).

Статистическая обработка выполнена с использованием пакета статистических программ SPSS 21.0. Данные в проспективном анализе представлены как среднее и стандартное отклонение для нормального распределения, а также в виде медианы и интерквартильного размаха для распределения, отличного от нормального. При оценке различий средних для признаков с нормальным распределением использовался t-критерий Стьюдента; для признаков, распределение которых отлично от нормального, — критерий Манна–Уитни; для категориальных переменных — критерий χ^2 . Различие оценивалось как достоверное при $p < 0,05$. При значении $p < 0,01$ достоверность считалась высокой. Для анализа связи между признаками применяли метод ранговой корреляции Спирмена и Пирсона, однофакторный/многофакторный дисперсионный анализ, метод линейной регрессии. Эффективность диагностического критерия — сывороточного уровня цистатина С по анализу чувствительности и специфичности — оценивали с помощью построения характеристической кривой (ROC-анализ). Информативность показателя оценивалась по величине площади под кривой (AUC). Модель клинко-диагностических критериев прогрессирования ХБП у детей была построена при

проведении мультифакторного регрессионного анализа. В качестве регрессионной модели была выбрана пошаговая регрессия.

При проведении ретроспективного анализа скорость прогрессирования хронической болезни почек и почечную выживаемость оценивали методом Каплана–Мейера и при помощи регрессионной модели Кокса с пропорциональными рисками.

Результаты исследования и их обсуждение

Выявление закономерностей прогрессирования ХБП у детей

В рамках *ретроспективного анализа* для установления значимости основных факторов риска прогрессирования ХБП проанализировано влияние персистирующей протеинурии (ПУ) и артериальной гипертензии (АГ) на скорость снижения почечных функций у детей.

В зависимости от выраженности протеинурии в дебюте болезни пациенты были разделены на 3 категории.

В группу с протеинурией более 3 г/сут были включены дети (n=39) с активным стероидрезистентным нефротическим синдромом и пациенты с наследственным нефритом, клинически проявляющимся гематурией в сочетании с нефротическим синдромом.

Группу с умеренной протеинурией (1–2 г/сут) составили пациенты (n=35) с наследственным нефритом, состоянием после перенесенного гемолитико-уремического синдрома, а также дети с умеренной активностью фокально-сегментарного гломерулосклероза.

В группу с протеинурией ≤ 1 г/сут были объединены больные (n=71) с различной неиммунной патологией, перечисленной выше, а также пациенты, достигшие ремиссии нефротического синдрома.

Установлено (рис. 2), что при стойкой протеинурии более 3 г/сут прогрессивное снижение СКФ ниже 60 мл/мин/1,73м² в среднем происходит через $7,8 \pm 0,44$ (6–10) года от дебюта болезни. Это достоверно быстрее, чем при протеинурических формах нефропатий с более низким уровнем протеинурии: $11,1 \pm 0,9$ (9–12) года при персистирующей протеинурии в пределах 1–2 г/сут и $10,9 \pm 0,7$ (4–12) года при протеинурии не более 1 г/сут ($p < 0,05$).

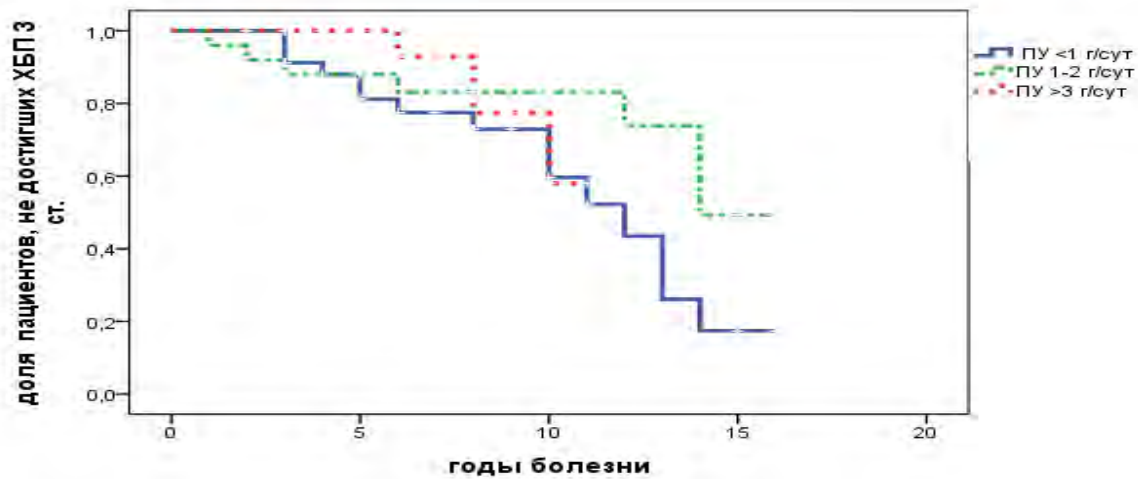


Рисунок 2. Динамика прогрессирования ХБП у детей в зависимости от уровня персистирующей протеинурии

В работе также дана оценка скорости достижения третьей стадии ХБП в зависимости от наличия и степени выраженности артериальной гипертензии (рис.3).

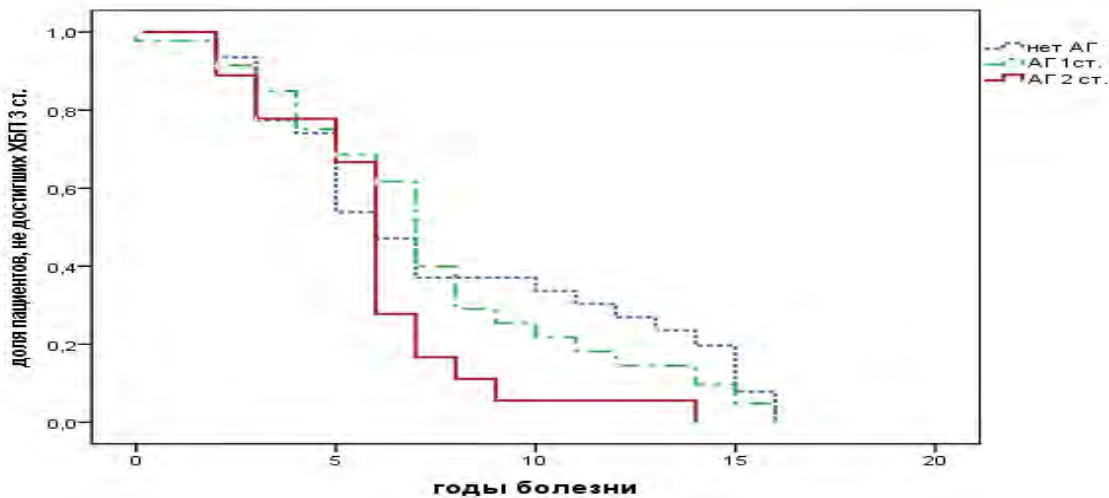


Рисунок 3. Динамика прогрессирования ХБП у детей в зависимости от наличия артериальной гипертензии с дебюта болезни

Показано, что артериальная гипертензия 2-й степени, наблюдаемая от дебюта болезни, оказывает значимое влияние на увеличение скорости прогрессирования нефропатий. Средний срок достижения 3-й стадии ХБП у этих больных составил $6,9 \pm 0,7$ года, что достоверно меньше, чем у пациентов без артериальной гипертензии с дебюта болезни или при наличии АГ 1-й степени — $8,7 \pm 0,7$ и $8,6 \pm 0,7$ г. соответственно ($p < 0,05$).

Следует констатировать, что в нашей работе такие параметры как возраст и пол ребенка, а также возраст дебюта болезни не оказали значимого воздействия на скорость прогрессирования ХБП ($p=0,08$). При этом при проведении сравнительного анализа темпов прогрессирования патологии в зависимости от формы болезни и проводимой терапии были установлены устойчивые закономерности.

Так, у детей с первичным нефротическим синдромом, резистентным к стандартной стероидной терапии, средний период прогрессирования до необратимой 3-й стадии ХБП был достоверно меньше (рис.4), чем у детей с неиммунной патологией ($6,3 \pm 0,4$ и $8,2 \pm 0,6$ г., соответственно, $p < 0,05$).

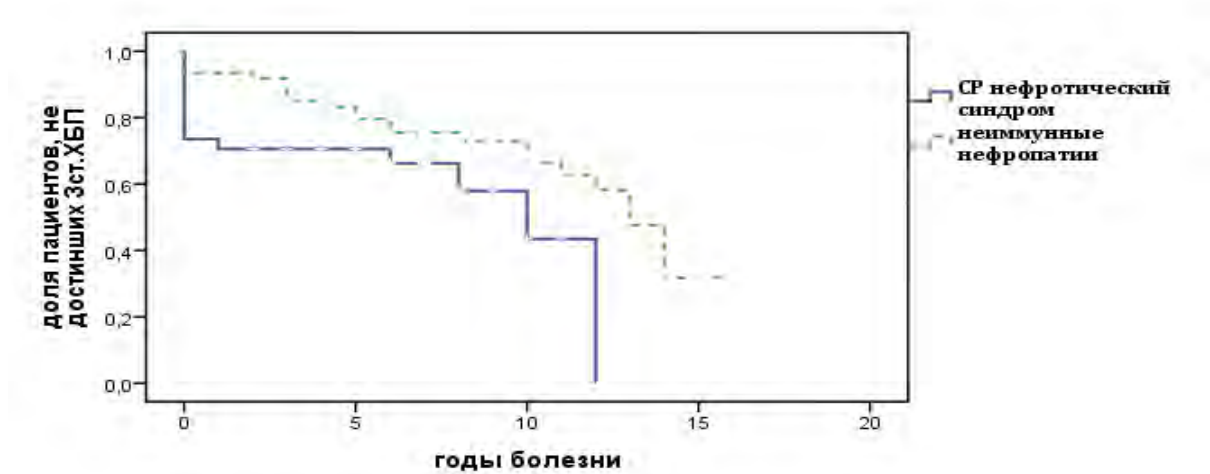


Рисунок 4. Темпы достижения 3-й стадии ХБП при стероидрезистентном (СР) нефротическом синдроме и неиммунной патологии

Детальный анализ представленной выборки пациентов позволил выявить влияние различных схем терапии, направленной на снижение протеинурии и артериальной гипертензии, на изменение темпов прогрессирования ХБП.

Для пациентов с первичным нефротическим синдромом было установлено, что купирование протеинурии нефротического уровня вследствие применения патогенетической иммуносупрессивной терапии определяет прогноз болезни. Так, при исследовании течения нефротического синдрома с морфологической основой фокально-сегментарный гломерулосклероз (рис.5) в условиях приема селективного иммуносупрессивного препарата циклоспорина А (ЦсА) в средней дозе $3,9$ ($3-5$) мг/кг/сутки констатировано достижение ремиссии у 68% пациентов. Средняя длительность терапии циклоспорином А у них составила 3 года 2 месяца.

В 100% случаев при достижении ремиссии в условиях данной терапии отсутствовало снижение СКФ на протяжении от 5 до 13 лет, в среднем в течение 7,5 лет.

У 10% детей на фоне лечения ЦсА отмечено снижение уровня протеинурии до 1–2 г/сут. Сохранение СКФ > 90 мл/мин/1,73м² определяется у данной группы пациентов только в 67% случаев в течение 7 (5-12) лет. При отсутствии эффекта от проводимой терапии циклоспорином А (22% больных) прогрессирование фокально-сегментарного гломерулосклероза отмечено во всех случаях. Прогрессирование до 3 стадии ХБП наступило в сроки от 6 до 11 лет, медиана периода до снижения СКФ ниже 60 мл/мин/1,73м² составила 6 лет.

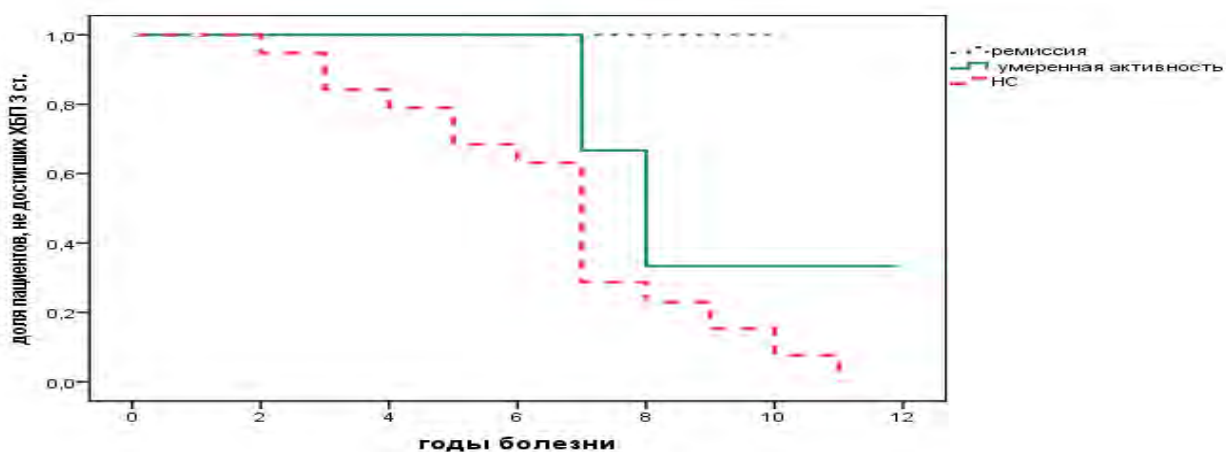


Рисунок 5. Динамика прогрессирования ФГС в зависимости от эффективности терапии циклоsporином А

При анализе течения болезни у детей с мембранопролиферативным гломерулонефритом 1-го типа, у которых проводилась патогенетическая терапия мофетила микофенолатом (ММФ) в средней дозе 1000 мг/м², ремиссия была констатирована в 40% случаев. При достижении ремиссии у 100% пациентов в течение 6 лет отсутствовало прогрессирование мембранопролиферативного гломерулонефрита. При неэффективности данной терапии у большинства детей (83%) отмечается прогрессивное снижение фильтрационной функции почек в течение 6 лет.

Исследование почечной выживаемости у детей с прогностически неблагоприятными вариантами нефротического синдрома позволило установить,

что через 3, 5 и 7 лет от дебюта болезни у детей, достигших ремиссии как фокально-сегментарного гломерулосклероза, так и мембранопролиферативного гломерулонефрита, в 100% случаев отсутствует снижение СКФ в данные декретированные сроки. При отсутствии эффекта от проводимой иммуносупрессивной терапии трехлетняя почечная выживаемость установлена у 80% больных с ФСГС и 80% детей с МПГН. Пятилетняя почечная выживаемость выявлена у 70% детей с фокально-сегментарным гломерулосклерозом и у 60% — с мембранопролиферативным гломерулонефритом, семилетняя — только у 50% пациентов с обоими вариантами болезни.

При изучении влияния артериальной гипертензии на прогрессирование неблагоприятных форм нефротического синдрома (рис.6) было выявлено, что при отсутствии артериальной гипертензии медианный период до снижения СКФ ниже $60 \text{ мл/мин}/1,73 \text{ м}^2$ был достоверно больше, чем при наличии АГ с дебюта болезни ($8,9 \pm 1,2$ и $6,8 \pm 0,6$ года соответственно, $p < 0,05$).

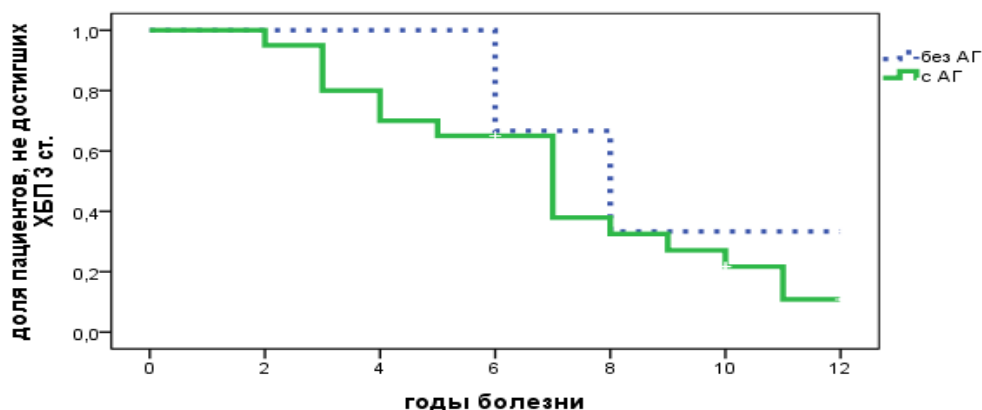


Рисунок 6. Динамика прогрессирования стероидрезистентного нефротического синдрома в зависимости от наличия АГ с дебюта болезни

Выявленная прогностическая значимость данного клинического симптома определила необходимость оценки проводимого у детей с НС гипотензивного лечения. Установлено, что тактику подбора гипотензивной терапии определяла именно степень выраженности артериальной гипертензии. Монотерапия гипотензивными препаратами была эффективна при АГ 1 степени. Для купирования АГ 2 степени требовалось применение от двух до четырех антигипертензивных препаратов. Фармакологическая коррекция АД осуществлялась с применением ингибиторов АПФ, блокаторов кальциевых

каналов, блокаторов рецепторов к ангиотензину-2, β - блокаторов и диуретического препарата индапамид пролонгированного действия.

Ретроспективное исследование, проведенное в рамках настоящего исследования, позволило также определить темпы прогрессирования хронической неиммунной патологии.

У всех детей с неиммунными нефропатиями, включенных в анализ, появление протеинурии было диагностировано в стадии отсутствия снижения СКФ. Средний период до появления протеинурии от начала болезни или от рождения при наличии врожденной патологии составил 3,5 года (от 1 до 6 лет). Пациенты были разделены в зависимости от уровня протеинурии на начальной стадии болезни при СКФ > 90 мл/мин/1,73м² на две группы: с протеинурией менее 1 г/сут (n=38) и с протеинурией более 1 г/сут (n=32).

Достоверной разницы в скорости снижения СКФ в зависимости от уровня протеинурии не было получено (8 лет при протеинурии менее 1 г/сут и 9 лет при протеинурии более 1 г/сут). Дополнительная стратификация по наличию и степени выраженности артериальной гипертензии (рис.7) показала, что наименьший период до снижения СКФ ниже 60 мл/мин/1,73м² отмечен у пациентов при наличии артериальной гипертензии 2-й степени как в условиях минимальной протеинурии (менее 1 г/сут), так и ее умеренной выраженности (1–2 г/сут) ($p < 0,05$).

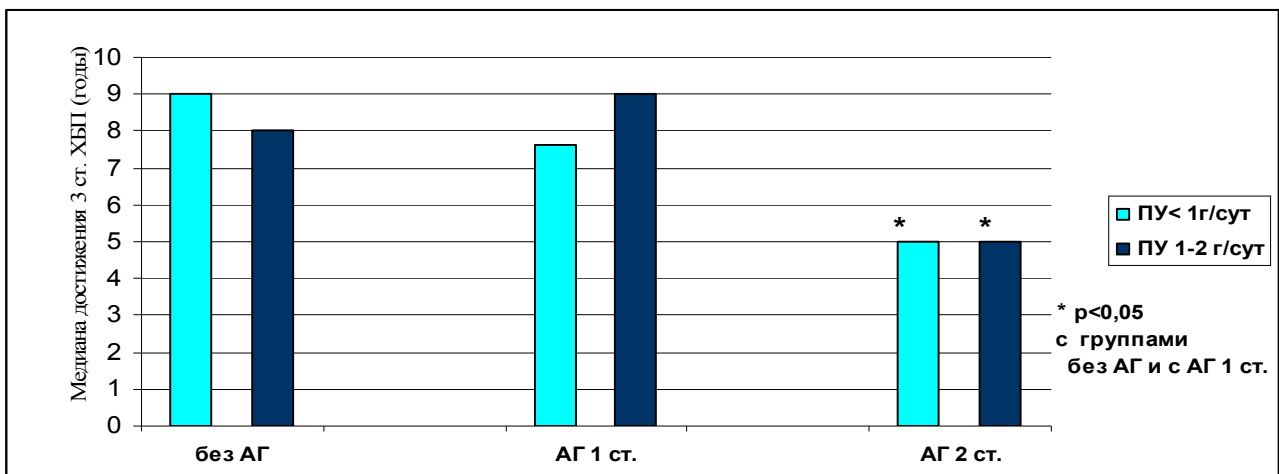


Рисунок 7. Медианный временной период до снижения СКФ ниже 60 мл/мин/1,73м² у детей с протеинурическими формами неиммунных нефропатий

Таким образом, было определено сочетанное влияние протеинурии и артериальной гипертензии и на скорость прогрессирования ХБП неиммунного генеза, что

обуславливает необходимость своевременного проведения антипротеинурической и гипотензивной терапии у данной группы пациентов.

У детей с неиммунными нефропатиями коррекция АД осуществлялась ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) изолированно при АГ 1 степени и в составе вышеуказанной комплексной терапии при АГ 2 степени.

Для обоснования целесообразности нефропротективной терапии даже при отсутствии артериальной гипертензии в работе был проведен сравнительный анализ темпов прогрессирования протеинурических форм неиммунной патологии у детей в условиях планового назначения ингибитора АПФ фозиноприла в средней дозе $0,2 \pm 0,05$ мг/кг ($n=22$) и без данной терапии ($n=18$). Показано (рис.8), что период до снижения СКФ <60 мл/мин/ $1,73\text{м}^2$ достоверно увеличивался до 12 лет при использовании иАПФ в сравнении с детьми без данной терапии — 7 лет ($p<0,05$).

Необходимо отметить, что ингибиторы АПФ назначались детям как при протеинурии более 1 г/сут (65%), так и при протеинурии менее 1 г/сут (35%).

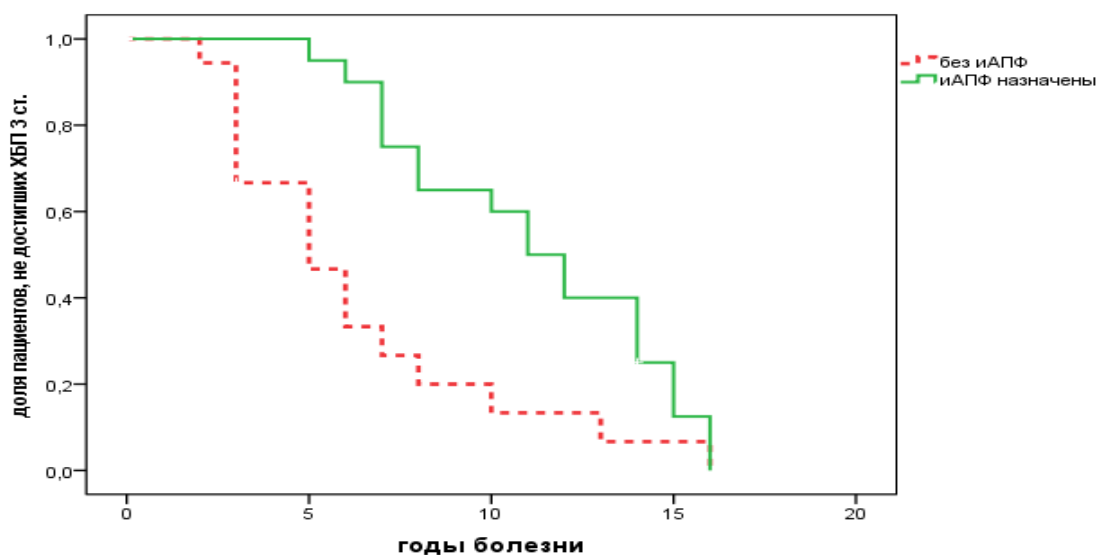


Рисунок 8. Влияние терапии ингибиторами АПФ на темпы прогрессирования протеинурических форм неиммунной патологии

Обоснованность приема ингибиторов АПФ при неиммунных нефропатиях с антипротеинурической целью была подтверждена и более высокой почечной выживаемостью у этих больных (95% через 5 лет и 90% через 7 лет) по

сравнению со средним значением этого показателя по всей группе детей (80% через 5 лет 70% через 7 лет соответственно).

Полученные результаты позволяют констатировать, что плановое назначение ингибиторов АПФ в стадии отсутствия снижения СКФ значительно замедляет скорость прогрессирования неиммунных нефропатий при протеинурии любой степени выраженности.

Суммируя результаты ретроспективного исследования, следует отметить, что несмотря на патогенетические различия нефротического синдрома, наследственного нефрита, рефлюкс-нефропатии и других неиммунных вариантов ХБП, на этапе развития склеротических изменений в почечной ткани скорость их прогрессирования определяется именно выраженностью протеинурии и артериальной гипертензии. Четкое ранжирование стадий болезни в соответствии с концепцией ХБП дает возможность единообразно оценивать темпы прогрессирования патологии у детей.

В рамках проведенного *проспективного анализа* нами был изучен комплекс показателей, отражающих и регулирующих основные механизмы формирования нефросклероза, выявлены ранние биохимические предикторы снижения фильтрационной функции почек, а также определена совокупность прогностически значимых критериев прогрессирования ХБП у детей.

Молекулярные основы развития нефросклероза у детей с хронической болезнью почек

При исследовании динамики содержания растворимых форм индикаторов рецепторного пути реализации апоптоза (sFas-рецептор и sFas-лиганд), а также таких маркеров программированной гибели клетки, как аннексин V и цитохром C выявлено достоверное превышение нормальных значений всех исследуемых маркеров апоптоза у детей с хронической болезнью почек 1–4-й стадии (табл. 2).

Детальный анализ представленных результатов показал, что сывороточное содержание растворимой формы Fas-рецептора в 1-й стадии ХБП было достоверно ниже, чем у пациентов с ХБП 2–4-й стадии. При этом у них был отмечен наиболее высокий уровень растворимой формы Fas-лиганда, достоверно превышающий значения этого показателя при СКФ ниже 90 мл/мин/1,73м² (p<0,05).

Динамика маркеров апоптоза у детей в зависимости от стадии ХБП

Пациенты	sFas-R (нг/мл)	sFas-L (нг/мл)	Аннексин V (нг/мл)	Цитохром С (нг/мл)
ХБП 1-й ст. (n=66)	**0,35±0,03*	**0,132±0,01*	1,44±0,6*	0,55±0,2*
ХБП 2-й ст. (n=15)	0,49±0,06*	0,128±0,01*	1,39±0,6*	0,37±0,07*
ХБП 3–4-й ст. (n=12)	0,50±0,03*	0,126±0,01*	1,30±0,2*	0,49±0,06*
Группа сравнения (n=19)	0,023±0,02	0,08±0,04	0,23±0,01	0,28±0,03

Примечание. * — $p < 0,05$ с группой сравнения; ** — $p < 0,05$ с ХБП 2–4-й стадии

Уровень цитохрома С и аннексина V у детей на всех исследуемых стадиях ХБП достоверно превышал нормальные значения, однако, колебания активности данных маркеров апоптоза не были значимыми. В связи с этим стало возможным предположить, что данные показатели отражают непосредственную вовлеченность запрограммированной гибели клеток на всех стадиях прогрессирования хронической патологии почек. Высокое содержание аннексина V в соответствии с его патофизиологической ролью в развитии апоптоза демонстрирует наличие повреждения целостности клеточной мембраны, а превышение содержания цитохрома С свидетельствует о поражении клеточных органелл митохондрий у пациентов с прогрессирующим течением почечной патологии.

В то же время полученные достоверные различия в содержании растворимых форм маркеров Fas-опосредованного пути развития апоптоза у детей с сохранной фильтрационной функцией и при снижении СКФ < 90 мл/мин/1,73м² дают возможность охарактеризовать степень выраженности активации рецепторного пути реализации апоптоза на разных этапах развития склеротических процессов в почечной ткани.

Для определения среди изучаемых маркеров апоптоза наиболее информативных предикторов развития склеротических процессов в почке проведено сравнение их уровней при разных нозологических формах почечной патологии в стадии до начала снижения СКФ. Достоверные различия сывороточного уровня при иммуноопосредованных и неиммунных нефропатиях были обнаружены только для растворимой формы Fas-рецептора (рис. 9).

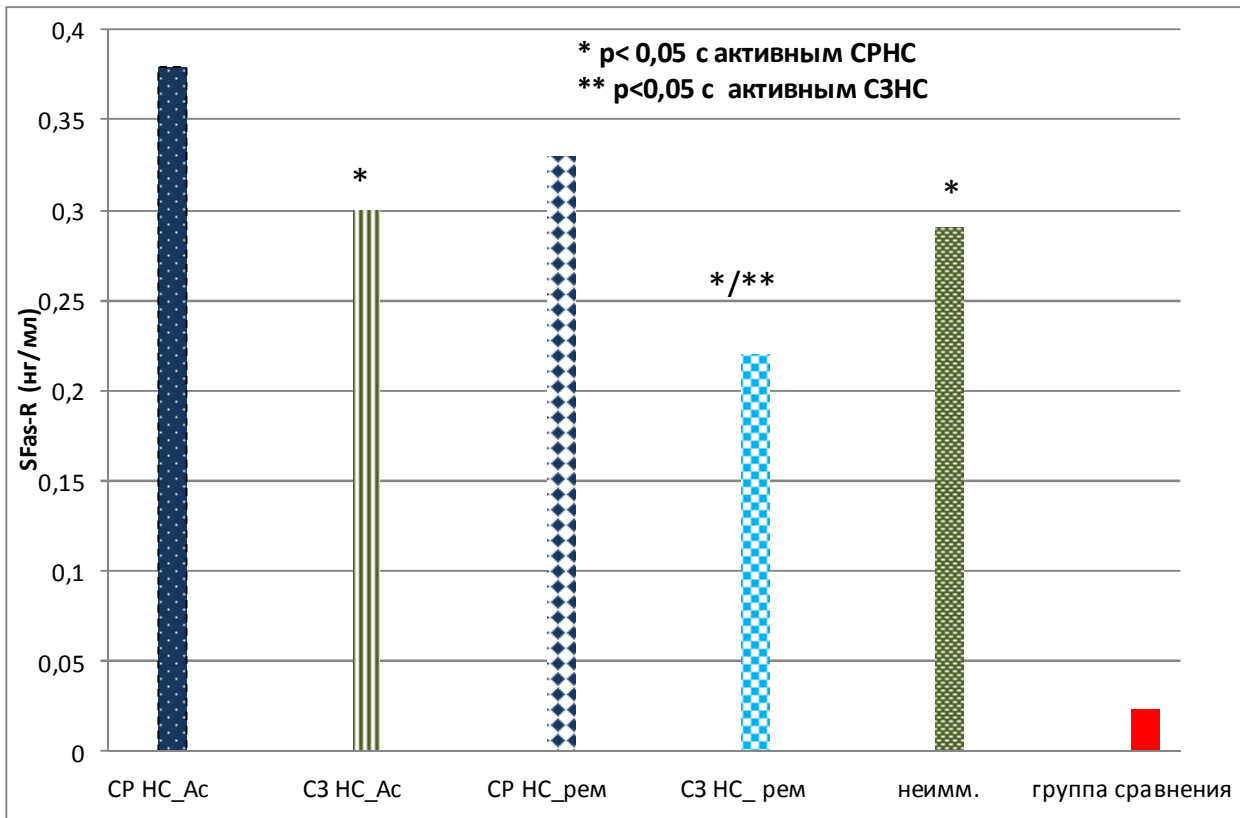


Рисунок 9. Уровень растворимой формы Fas-рецептора у детей с ХБП 1-ой стадии

Полученный результат подтверждает предположение об информативности растворимой формы Fas-рецептора для оценки выраженности проапоптотной активности у пациентов с прогностически неблагоприятными формами нефропатий.

Трансмембранные рецепторы запуска апоптоза, в первую очередь Fas-рецепторы, являются также мишенью воздействия матриксных металлопротеиназ (ММП), что обуславливает их связующую функцию в межклеточных взаимодействиях. В свою очередь ММП и их тканевые ингибиторы играют

ведущую роль в регуляции баланса между синтезом и деградацией компонентов экстрацеллюлярного матрикса.

В проведенном нами исследовании изучена концентрация в сыворотке крови основных форм металлопротеиназ ММП-3, ММП-8, ММП-9 и ТИМП-1 у пациентов с прогрессирующим течением хронической патологии почек.

В результате исследования активности указанных протеолитических ферментов и их ингибитора (табл.3) было показано, что уровни этих показателей были достоверно выше нормальных значений на всех стадиях ХБП. Наиболее высокие уровни ММП-3 и ММП-9 были диагностированы на 1-й стадии ХБП, а наиболее высокое содержание ТИМП-1 — у пациентов при СКФ ниже 60 мл/мин/1,73м² (p<0,05). Уровень ММП-8 достоверно превышал нормальные значения во всех группах, однако, изменение активности этого фермента в зависимости от изменения СКФ не было значимым.

Таблица 3.

Динамика матриксных металлопротеиназ и их тканевого ингибитора-1 (нг/мл) у детей в зависимости от стадии ХБП

Пациенты	ММП-3	ММП-8	ММП-9	ТИМП-1
ХБП 1-й ст. (n=66)	**13,3±1,7*	19,9±5,1*	**349,5±84*	***830,0±46*
ХБП 2-й ст. (n=15)	10,1±2,8*	18,4±5,8*	250,3±28*	***825,6±101*
ХБП 3–4-й ст. (n=12)	8,2±2,4*	18,3±1,4*	248,6±35*	1132±116*
Группа сравнения (n=19)	4,2±1,4	13,4±2,2	127,2±46	300,5±87

Примечание. * — p<0,05 с группой сравнения; ** — p<0,05 с ХБП 2-й стадии; *** — p<0,05 с ХБП 3–4-й стадии.

Учитывая разнонаправленное патофизиологическое действие матриксных протеиназ и их ингибитора, была проведена оценка их соотношения на разных стадия ХБП.

Как было установлено, наиболее высокая концентрация ММП-3, ММП-9 и наименьшее содержание в крови ТИМП-1 определены на первой стадии ХБП. При этом соотношения ММП-3/ТИМП-1 и ММП-9/ТИМП-1 у этих больных не отличались от значения аналогичного коэффициента в группе здоровых пациентов (табл.4). В то же время у детей с СКФ <60 мл/мин/1,73м² данные соотношения были существенно ниже, чем в группе контроля.

Таблица 4.

Соотношение активности ММП-3, ММП-9 и ТИМП-1 у детей с ХБП

Пациенты	ММП-3/ТИМП-1(усл. ед)	ММП-9/ТИМП-1(усл. ед)
ХБП 1-й ст. (n=66)	0,01	0,4
ХБП 3–4-й ст. (n=12)	0,007	0,2
Группа сравнения (n=19)	0,01	0,4

Установленные закономерности позволяют констатировать, что наиболее высокие уровни ММП-9 и ММП-3 и нормальные соотношения ММП-3/ТИМП-1 и ММП-9/ТИМП-1 при отсутствии снижения СКФ отражают высокую репарационную антисклеротическую направленность протеолитических ферментов на начальной стадии хронической болезни почек. С другой стороны, достоверное повышение уровня ТИМП-1, ингибирующего активность металлопротеиназ и резкое снижение соотношений ММП-3/ТИМП-1 и ММП-9/ТИМП-1 к 3-й стадии ХБП свидетельствуют о выраженном подавлении протеолитической активности ММП у детей при снижении СКФ < 60 мл/мин/1,73м². Это приводит к накоплению компонентов ЭЦМ и, соответственно, нарастанию склеротических изменений.

При изучении уровней в крови ММП и ТИМП-1 у детей с иммунной и неиммунной патологией в первой стадии ХБП наиболее значимые колебания значений были установлены для тканевого ингибитора металлопротеиназ.

Так, сывороточный уровень ТИМП-1 у детей в активную стадию стероидрезистентного нефротического синдрома превышал аналогичный показатель при стероидзависимом НС (p<0,05). Установлено также достоверное снижение содержания ТИМП-1 у детей при достижении ремиссии как стероидрезистентного, так и стероидзависимого нефротического синдрома в

сравнении с его значениями в активной стадии. Содержание ТИМП-1 в крови при неиммунных нефропатиях также было ниже, чем при активном нефротическом синдроме и было сопоставимо со значениями в ремиссии НС.

Полученный результат позволяет рассматривать тканевой ингибитор металлопротеиназ-1 в качестве наиболее чувствительного просклеротического показателя среди всех изучаемых маркеров протеолиза, так как его максимальные значения были выявлены у детей с сохранной фильтрационной функцией почек именно при прогностически неблагоприятных формах нефропатий.

В настоящем исследовании для расширения представления о механизмах регуляции формирования нефросклероза у детей с хронической патологией почек была дана характеристика сывороточной активности просклеротических биологических агентов: моноцитарного хемоаттрактивного протеина-1 (МХП-1), трансформирующего фактора роста- β 1 (ТФР- β 1), фибронектина на разных стадиях прогрессирования патологии (табл. 5).

Таблица 5.

Сывороточное содержание регуляторных просклеротических маркеров в крови у детей в зависимости от стадии ХБП

Пациенты	МХП-1 (нг/мл)	Фибронектин (мкг/мл)	ТФР- β 1 (нг/мл)
ХБП 1-й ст. (n=66)	**274,1 \pm 19*	**161,4 \pm 49*	45,7 \pm 2,4*
ХБП 2-й ст. (n=15)	**266,1 \pm 78*	**256,2 \pm 81*	41,8 \pm 5,4*
ХБП 3–4-й ст. (n=12)	318,8 \pm 41*	340,1 \pm 69*	34,5 \pm 9,2*
Группа сравнения (n=19)	125 \pm 42	108 \pm 7,8	4,1 \pm 0,6

Примечание. * — $p < 0,05$ с группой сравнения; ** — $p < 0,05$ с ХБП 3–4-й стадии.

Установлено, что уровень изучаемых просклеротических маркеров на всех стадиях ХБП превышал нормальные значения ($p < 0,05$). Содержание ТФР- β 1 было сопоставимо на всех исследуемых стадиях ХБП, что свидетельствует о высокой

активности данного просклеротического агента на этапах инициализации и развития прогрессирования патологии почек. Наиболее высокое содержание МХП-1 отмечено у детей при СКФ <60 мл/мин/1,73м², что также соответствует патофизиологической роли данного хемокина, отражающей выраженность мононуклеарной инфильтрации гломерулярного аппарата и интерстиция почек.

Представленный анализ показал максимальное содержание в крови фибронектина у пациентов с ХБП 3–4-й стадии ($p < 0,05$), что характеризует его значимое участие в прогрессировании склеротических процессов в почке.

При рассмотрении сывороточного содержания изучаемых просклеротических агентов у детей на первой стадии ХБП (табл.6) были установлены максимально высокие показатели фибронектина, ТФР- β 1 и МХП-1 при активном СРНС, достоверно превышающие значения как в активной стадии прогностически благоприятного стероидзависимого нефротического синдрома, так и в ремиссии стероидрезистентного варианта ($p < 0,05$).

Таблица 6.

Уровни регуляторных просклеротических маркеров в крови у детей с ХБП 1-й стадии при нефротическом синдроме

Формы нефропатий	МХП-1 (нг/мл)	Фибронектин (мкг/мл)	ТФР- β 1 (нг/мл)
СРНС АС, n=27	**308,2 \pm 24*	**179,4 \pm 19*	**49,7 \pm 2,7*
СРНС рем., n=15	211,1 \pm 33	158,2 \pm 12	32,8 \pm 6,5
СЗНС АС, n=10	204,7 \pm 15	152,7 \pm 7,0	42,2 \pm 6,0
СЗНС рем., n=22	196,4 \pm 19	121,0 \pm 11	27,2 \pm 4,3
Группа сравнения, n=19	125 \pm 42	108 \pm 7,8	4,1 \pm 0,6

Примечание. * — $p < 0,05$ с активной стадией СЗНС; ** $p < 0,05$ с стадией ремиссии СРНС.

Полученные данные демонстрируют наиболее выраженную активность просклеротических хемокинов у детей в активной стадии прогностически неблагоприятного варианта нефротического синдрома.

Достоверное снижение их концентрации при достижении ремиссии стероидрезистентного нефротического синдрома, меньший уровень в активной стадии прогностически благоприятного стероидзависимого НС, выявленные в настоящем исследовании, позволяют рассматривать данные показатели в качестве молекулярных критериев прогноза болезни.

Высказанное нами положение о прогностической значимости МХП-1, фибронектина, ТФР- β 1 было подтверждено при анализе активности данных маркеров в группе детей на 1-й стадии ХБП с неиммунными нефропатиями, так как их уровни были соизмеримы с аналогичными значениями в активной стадии нефротического синдрома (рис. 10).

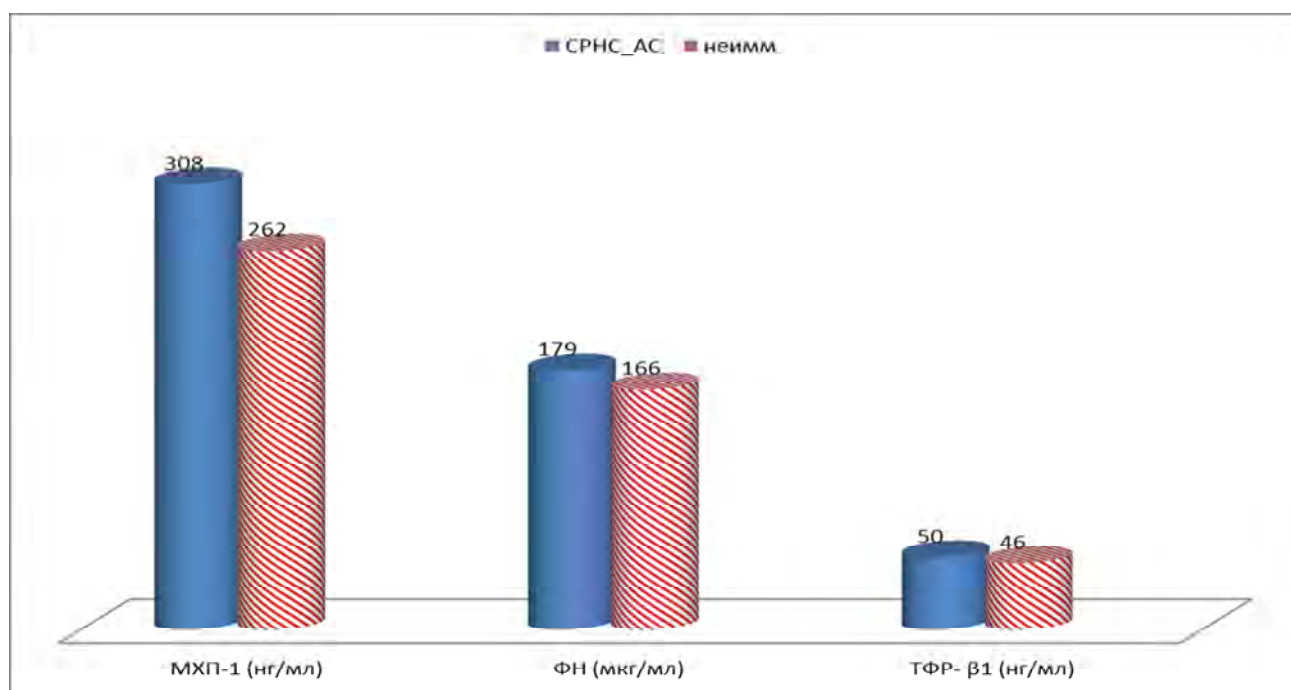


Рисунок 10. Уровни просклеротических маркеров у детей с СРНС и неиммунными нефропатиями при СКФ > 90 мл/мин/1,73м² (p>0,05)

В результате определения в нашей работе новых значимых закономерностей в изменении активности апоптоза, нарушении баланса синтеза и деградации компонентов экстрацеллюлярного матрикса, гиперактивации просклеротических хемокинов было не только расширено представление о патофизиологических процессах прогрессирования ХБП у детей, но и дано более глубокое понимание направленности антисклеротической терапевтической стратегии для данной группы пациентов.

В соответствии с современными представлениями ингибиторы АПФ являются препаратами, которые рекомендованы для применения у больных с ХБП с целью замедления прогрессирования почечной патологии (Смирнов А.В., Ruggenti R., 2012).

Для расширения представлений о молекулярных основах нефропротективного воздействия данной терапии было изучено ее влияние на изменение содержания показателей апоптоза, активности протеолитических металлопротеиназ, а также уровней фибронектина, МХП-1 и ТФР-β1 в крови у детей с ХБП 1-й стадии.

Для анализа было выбрано 9 пациентов с неиммунными нефропатиями без артериальной гипертензии. Средний уровень протеинурии у них составил $0,4 \pm 0,04$ г/сут. С антипротеинурической целью данные больные получали фозиноприл в дозе $0,2 \pm 0,03$ ($0,1-0,3$) мг/кг в сутки. В группу сравнения вошли 11 пациентов с сопоставимым средним уровнем протеинурии — $0,3 \pm 0,09$ г/сут без артериальной гипертензии и без терапии ингибиторами АПФ (рис.11).

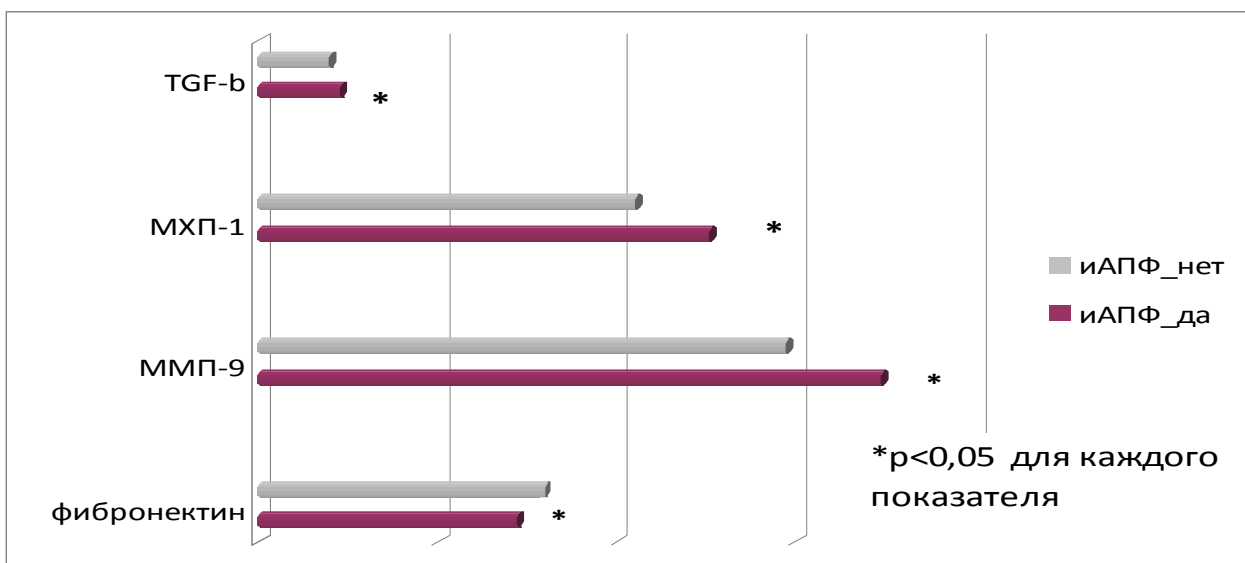


Рисунок 11. Влияние терапии ингибиторами иАПФ на содержание провоспалительных хемокинов и ММП-9 у детей с ХБП 1-ой стадии неиммунного генеза

Было показано, что у детей, получающих ингибитор АПФ, уровни провоспалительных хемокинов фибронектина, МХП-1 и ТФР-β1 были достоверно ниже, а уровень протеолитической активности, характеризуемый содержанием

ММП-9, наоборот, достоверно выше по сравнению с детьми, у которых данная терапия не проводилась.

В настоящей работе эндотелиальная дисфункция была рассмотрена с точки зрения ее возможного прямого и опосредованного просклеротического действия. Продемонстрировано, что уровень ПАИ-1-АГ, определяющий не только выраженность процессов фибринолиза, но и подавляющий активность протеолитических металлопротеиназ, прогрессивно увеличивался по мере снижения СКФ с достижением максимальных значений при СКФ ниже 60 мл/мин/1,73м². Содержание ЭТ-1, ключевого вазопрессорного фактора эндотелия, было выше нормы на всех стадиях ХБП, что объясняет важное прогностическое значение вазоконстрикции на всех этапах развития нефросклероза (табл.7).

Таблица 7.

Динамика маркеров эндотелиальной дисфункции у детей в зависимости от стадии хронической болезни почек

Пациенты	ПАИ-1-АГ (нг/мл)	Эт-1 (фмоль/мл)	Оксид азота (мкмоль/л)	Оксид азота/ Эт-1
ХБП 1-й ст.(n=66)	43,8±3,6	0,46±0,05*	53,23±2,3* /***	111,14±7,1 /***
ХБП 2-й ст.(n=15)	**57,4±4,2*	0,46±0,04*	**30,39±2,9*	**63,18±6,9*
ХБП 3-4 ст.(n=12)	**102,4±10,1* /***	0,56±0,05*	**20,17±4,3 /***	**34,32±6,1* /***
Группа сравнения (n=19)	45,2±3,1	0,26±0,03	24,09±3,5	90,16±11,5

Примечание. * — p<0,05 с группой сравнения; ** — p<0,05 с ХБП 1-й стадии; *** — p<0,05 с ХБП 2-й стадии.

Максимальное высокое содержание оксида азота и, соответственно, нормальное соотношение оксид азота/Эт-1 при СКФ выше 90 мл/мин/1,73м² позволяет говорить о компенсаторных вазодилатационных возможностях эндотелия в ответ на развитие патологического процесса. По мере усиления склеротических процессов происходит истощение этих защитных способностей,

что подтверждается выраженным снижением уровня оксида азота и уменьшением соотношения оксид азота/Эт-1 при снижении СКФ ниже 60 мл/мин/1,73м².

У детей с ХБП 1-й стадии нами не было выявлено достоверных различий показателей ЭД в зависимости от генеза нефропатий. В то же время при сравнении уровней изучаемых маркеров ЭД в зависимости от выраженности АГ было показано, что наличие АГ 1 и 2 ст. сопровождалось максимальным повышением уровней ПАИ-1-АГ (51,5±4,9 и 69,2±4,9 нг/мл), Эт-1 (0,53±0,08 и 0,51±0,1 фмоль/л), оксида азота (44,6±6,9 и 66,3±7,6 мкмоль/л) в сравнении с больными без АГ (ПАИ-1-АГ — 39,6±3,9 нг/мл; Эт-1 — 0,34±0,06 фмоль/л, оксид азота — 26,3±5,0 мкмоль/л). Анализ содержания изучаемых параметров у гетерогенной группы детей с СКФ >90 мл/мин/1,73м² при разной степени выраженности протеинурии показал, что уровни ПАИ-1-АГ, Эт-1, оксида азота в сыворотке крови были наиболее высокими при протеинурии более 3 г/сут. Превышение нормальных значений Эт-1 и оксида азота отмечены также и у пациентов с минимальным уровнем протеинурии (менее 1 г/сут), что позволяет предположить вовлечение ЭД в развитие прогностически неблагоприятных форм нефропатий даже при их минимальной клинической активности.

Следовательно, можно констатировать, что, не исключая участия эндотелиальной дисфункции в патогенезе различных форм ХБП, степень ее патологического влияния как при иммуноопосредованных, так и неиммунных формах нефропатий обусловлена выраженностью прогностически неблагоприятных клинических факторов — артериальной гипертензии и протеинурии. Зависимость активности маркеров ЭД от степени выраженности этих факторов риска прогрессирования ХБП свидетельствует в пользу универсальности ее влияния на формирование нефросклероза.

Определение диагностической значимости цистатина С для оценки фильтрационной функции почек у детей с ХБП

По современным представлениям клиническое использование понятия ХБП подразумевает необходимость эффективного мониторинга фильтрационной способности почек. Для установления диагностической значимости

альтернативного параметра оценки фильтрационной функции почек иммуноферментным методом было определено сывороточное содержание цистатина С у детей с ХБП 1–4-й стадии (рис.12).

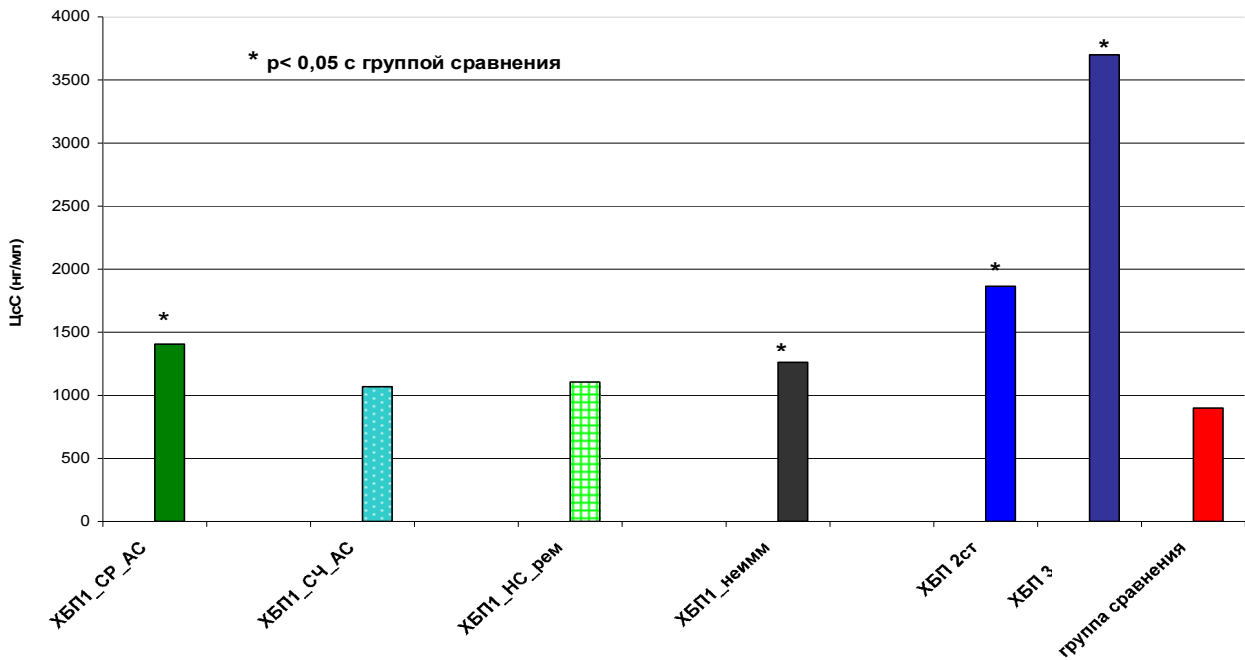


Рисунок 12. Сывороточный уровень цистатина С у детей с ХБП 1–4-й стадии

Выявлено достоверное повышение уровня цистатина С у пациентов с ХБП 2-4 стадий в сравнении с группой сравнения и референтными значениями (Filler, 2005). В группе пациентов с активным стероидрезистентным нефротическим синдромом при СКФ > 90 мл/мин/1,73м² также было установлено повышение среднего значения показателя в сравнении с нормой. При лонгитудинальном пятилетнем наблюдении за этими пациентами было выявлено, что изначально в стадии отсутствия гиперазотемии высокое содержание ЦсС в крови определялось у тех больных, у которых в течение 5 лет отмечено прогрессирование НС.

Полученный результат свидетельствует в пользу того, что данный маркер может быть рассмотрен в качестве более раннего индикатора снижения функций почек чем креатинин.

Для подтверждения возможности использования ЦсС в качестве достоверного маркера нефротоксичности циклоспорина А (ЦсА) был проанализирован его сывороточный уровень у 33 детей со стероидрезистентным и

стероидзависимым нефротическим синдромом в условиях разной длительности приема данного иммуносупрессивного препарата (рис.13).

На терапии ЦсА в дозе $3,5 \pm 0,3$ мг/кг в сутки менее одного года находились 11 пациентов. Средняя длительность терапии у них составила $6,8 \pm 0,7$ месяцев. Сывороточное содержание цистатина С у данных больных в среднем не превышало 1037 ± 80 нг/мл (минимально 670 нг/мл, максимально 1282 нг/мл) и было сопоставимым со средним уровнем ЦсС группы сравнения — 899 ± 129 (679–1210) нг/мл и средними значениями в группе ХБП 1-й стадии (1216 ± 366 нг/мл).

У 12 пациентов, получающих иммуносупрессивный препарат в среднетерапевтической дозе $3,4 \pm 0,7$ мг/кг в сутки длительностью от 18 до 24 месяцев (средняя длительность приема $19,2 \pm 4,5$ месяцев), уровень цистатина С составил 1359 ± 56 нг/мл (минимально 974 нг/мл, максимально 1926 нг/мл), что было выше значений группы сравнения — 899 ± 129 (679–1210) нг/мл ($p < 0,05$), однако не превышало диапазона средних значений в группе детей с ХБП 1-й стадии.

В 10 случаях дети получали лечение циклоспорином А более двух лет (в среднем $33,4 \pm 9,2$ месяца). При этом у 6 пациентов терапия проводилась в среднетерапевтической дозе 3,5 мг/кг, в 4 случаях в редуцированной дозе — 2–2,5 мг/кг, средняя доза препарата в данной выборке больных составила $2,8 \pm 0,5$ мг/кг в сутки. Средний уровень ЦсС был равен 1610 ± 74 нг/мл (минимально 1210 нг/мл, максимально 1887 нг/мл). Данный результат достоверно превышает значения группы сравнения и группы детей при применении циклоспорино А менее двух лет.

У 6 пациентов, получающий ЦсА более двух лет, была проведена повторная нефробиопсия для исключения нефротоксического эффекта длительного приема иммуносупрессанта. У 4 из них на фоне приема среднетерапевтической дозы ЦсА в течение $2,8 \pm 0,4$ года морфологических признаков нефротоксичности не выявлено. Уровень ЦсС у них был в пределах 1210–1543 нг/мл. В 2 случаях обнаружены признаки тубулотоксичности ЦсА. Уровень ЦсС у них был максимальный для данной группы пациентов — 1887 и 1637 нг/мл соответственно. Необходимо подчеркнуть, что при плановом регулярном мониторинге уровня креатинина крови

у исследуемых детей на разных сроках лечения циклоспорином А его повышения не было отмечено ни у одного из пациентов.

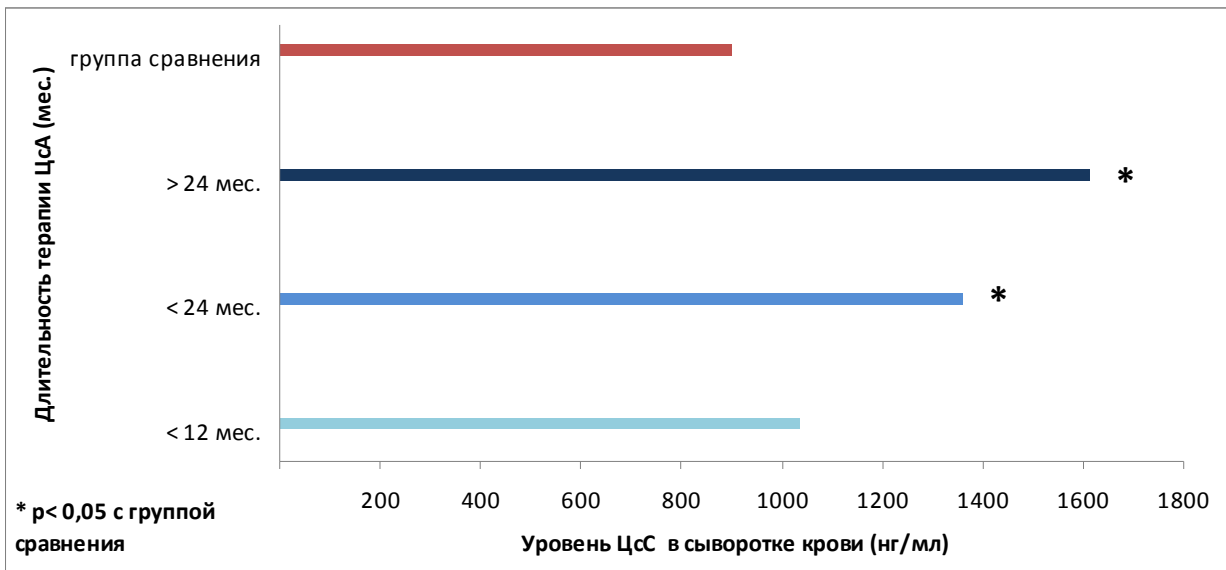


Рисунок 13. Уровень цистатина С у детей с фокально-сегментарным гломерулосклерозом при разной длительности терапии циклоспорином А

В работе был также проведен корреляционный анализ (рис.14), который продемонстрировал зависимость между уровнем ЦсС и длительностью терапии ЦсА ($R^2=0,7$; $p<0,01$).

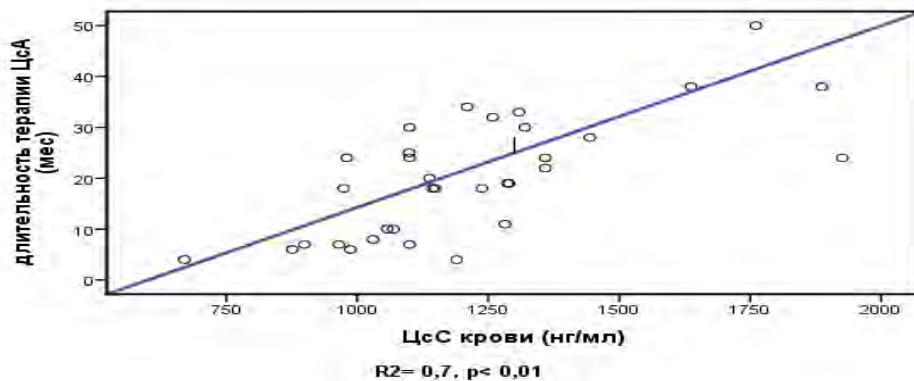


Рисунок 14. Корреляция уровня ЦсС и длительности терапии ЦсА у детей с нефротическим синдромом

Высокая диагностическая значимость цистатина С была подтверждена и с помощью ROC-анализа (рис.15). Установлено, что величина площади под кривой (AUC) достоверно выше 0,5 и равна 0,72 (0,59–0,86; $p<0,01$). Определено прогностическое пороговое значение содержания цистатина С в сыворотке крови —

1288 нг/мл, отражающее риск дальнейшего снижения СКФ (чувствительность 78%, специфичность 70%).

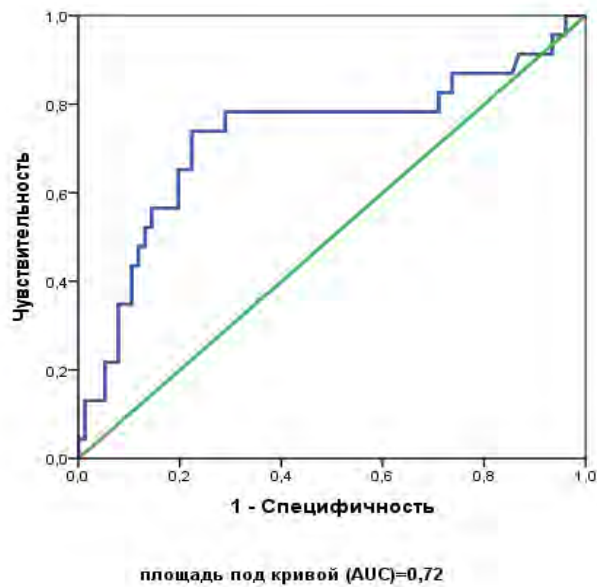


Рисунок 15. Диагностическая значимость цистатина С по данным ROC-анализа

Полученные результаты подтверждают, что цистатин С является более ранним маркером снижения фильтрационной функции почек у детей, чем креатинин, что дает основание использовать этот показатель в рутинном исследовании функций почек для адекватной оценки возможного риска прогрессирования патологии почек в детском возрасте и для мониторинга потенциального нефротоксического действия циклоспорина А.

Построение модели клинико-молекулярных предикторов прогрессирования ХБП у детей

Тесная взаимосвязь клинических, биохимических и молекулярных параметров прогрессирования ХБП определила необходимость комплексной оценки предпосылок развития нефросклероза у детей. С этой целью, используя метод мультифакторного регрессионного анализа, была построена модель прогностических критериев прогрессирования хронической болезни почек у детей. В качестве главного индикатора прогрессирования болезни почек в соответствии с международными стандартами концепции ХБП, использованными в настоящей работе, был выбран параметр СКФ.

Для построения модели в изучаемой выборке из 126 пациентов был определен список показателей, которые можно рассматривать в качестве потенциальных предикторов снижения СКФ. При уровне значимости $p < 0,05$ с СКФ достоверно коррелировали следующие параметры: возраст дебюта болезни; морфологический диагноз; протеинурия; артериальная гипертензия; холестеринемия, уровень гемоглобина крови, содержание стандартных бикарбонатов крови; наличие нефропротективной терапии ингибиторами АПФ; а также сывороточное содержание цистатина С, sFas- рецептора, ММП-9, ТИМП-1, МХП-1, ТФР- β 1, фибронектина, оксида азота, Эт-1 и ПАИ-1-АГ. Однако, при наличии статистически достоверной связи каждого из этих параметров с уровнем СКФ сила корреляции в большинстве случаев была минимальной ($R^2 < 0,3$).

Отсутствие установленного изолированного влияния отдельного параметра на изменение СКФ не исключало его вклада в развитие склеротических процессов. В связи с этим целесообразным представилось определение возможного сочетанного влияния потенциально значимых профибротических клинических и молекулярных факторов на динамику СКФ. В результате анализа были суммированы полученные результаты и определен комплекс статистически значимых маркеров развития склеротических процессов в почечной ткани (рис.16).



Рисунок 16. Модель прогностических критериев прогрессирования ХБП у детей

Установлено, что с 78% долей вариации прогрессивное снижение СКФ определяется совокупностью следующих факторов: персистирующая протеинурия более 1 г/сут; артериальная гипертензия 1-й и 2-й степени с дебюта болезни; снижение гемоглобина крови ниже 110 г/л; гиперпродукция ПАИ-1-АГ, фибронектина, МХП-1, ТИМП-1 и отсутствие нефропротективной терапии ингибиторами АПФ.

Данная прогностическая модель объединяет патофизиологическую значимость клинических и молекулярных биомаркеров развития нефросклероза у детей и подтверждает необходимость использования нефропротективной терапевтической тактики у детей с ХБП.

ВЫВОДЫ

1. На основании широкого спектра клинических и молекулярных исследований доказано единство патофизиологических процессов прогрессирования иммуноопосредованной и неиммунной почечной патологии у детей, что обосновывает методологическую правомочность, а также диагностическую и прогностическую целесообразность использования концепции хронической болезни почек в детской нефрологии.

2. Скорость прогрессирования как иммунных, так и неиммунных форм нефропатий определяется степенью выраженности протеинурии и артериальной гипертензии с дебюта болезни. При персистирующей протеинурии более 3 г/сут и артериальной гипертензии 2-й степени прогрессирование хронической болезни почек до необратимой третьей стадии наступает достоверно быстрее, чем при протеинурии менее 2 г/сут и при наличии артериальной гипертензии 1-й степени или ее отсутствии (в среднем на 3 и 2 года соответственно, $p < 0,05$).

3. Трехлетняя, пятилетняя и семилетняя почечная выживаемость у детей с первичным стероидрезистентным нефротическим синдромом определяется адекватностью проводимой терапии. При достижении ремиссии фокально-сегментарного гломерулосклероза и мембранопролиферативного гломерулонефрита 100% почечная выживаемость констатируется через 3, 5 и 7 лет от дебюта болезни. При сохранении активной стадии нефротического

синдрома трехлетняя почечная выживаемость определяется у 80% детей с фокально-сегментарным гломерулосклерозом и с мембранопролиферативным гломерулонефритом, пятилетняя почечная выживаемость констатируется у 70% детей с фокально-сегментарным гломерулосклерозом и у 60% детей с мембранопролиферативным гломерулонефритом, семилетняя - только в 50% случаев при обоих вариантах болезни.

4. Применение селективных иммуносупрессивных препаратов обеспечивает высокую частоту достижения ремиссии при первичном нефротическом синдроме, резистентном к стероидной терапии: при фокально-сегментарном гломерулосклерозе применение циклоспорина А обуславливает достижение ремиссии в 68% случаев, при мембранопролиферативном гломерулонефрите применение мофетила микофенолата - в 40% случаев.

5. При неиммунных формах нефропатий нефропротективная терапия ингибиторами АПФ в стадии до начала снижения СКФ повышает пятилетнюю почечную выживаемость с 80 до 95% и семилетнюю почечную выживаемость с 70 до 90% в сравнении со средним значением этого показателя в целом по всей группе детей с аналогичной патологией.

6. Степень выраженности апоптоза характеризуется сывороточным уровнем растворимой формы трансмембранного рецептора Fas и его лиганда. Выраженную репарационную направленность системы регуляции протеолиза в стадии отсутствия снижения СКФ у детей подтверждает высокое содержание в сыворотке крови матриксных металлопротеиназ ММП-3, ММП-9 и нормальное соотношение их концентрации с уровнем тканевого ингибитора металлопротеиназ-1. Резкое уменьшение содержания ММП, снижение их соотношения с ТИМП-1, обусловленное гиперпродукцией ТИМП-1 к 3-й стадии ХБП, свидетельствуют о существенном подавлении протеолитической активности при нарастании нефросклероза.

7. Высокие сывороточные уровни просклеротических медиаторов ТФР- β 1, МХП-1, фибронектина у детей на всех стадиях хронической болезни почек как иммунного, так и неиммунного генеза демонстрируют единообразие регуляторных процессов формирования нефросклероза.

8. Участие эндотелиальной дисфункции в прогрессировании хронической болезни почек у детей, отраженное содержанием в крови ПАИ-1-АГ, эндотелина-1 и оксида азота, единонаправлено при иммунных и неиммунных формах нефропатий и определяется степенью выраженности протеинурии и артериальной гипертензии, независимо от генеза нефропатии.

9. Цистатин С является чувствительным предиктором снижения фильтрационной функции почек, повышение его уровня в крови выше 1288 нг/мл диагностирует нарушение фильтрационной функции почек.

10. Нефропротективное действие ингибитора АПФ фозиноприла в средней дозе $0,2 \pm 0,03$ мг/кг у детей с протеинурическими формами неиммунных нефропатий подтверждается снижением сывороточных уровней просклеротических регуляторных факторов (ТФР- β 1, МХП-1, фибронектина).

11. Риск прогрессирования хронической болезни почек на 78% определяется совокупностью воздействия персистирующей протеинурии более 1 г/сут, артериальной гипертензии 1-й и 2-й степени с дебюта болезни, снижением уровня гемоглобина крови ниже 110 г/л, гиперпродукцией ПАИ-1-АГ, ТИМП-1, МХП-1, фибронектина и отсутствием терапии и АПФ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В детской нефрологии для адекватной оценки течения и прогноза хронической патологии почек следует использовать единую классификацию стадий хронической болезни почек в соответствии с международными рекомендациями K/DOQI .

2. Для оценки риска прогрессирования ХБП у детей и выбора адекватной нефропротективной терапии необходимо исследование степени выраженности протеинурии и артериальной гипертензии.

3. Эффективность иммуносупрессивной терапии циклоспорином А в средней дозе 3-5 мг/кг/сут у детей с ФСГС и мопетила микофенолатом при мембранопролиферативном гломерулонефрите в средней дозе 1000 мг/м²

способствует сохранению 7-летней почечной выживаемости у 100% детей, достигших ремиссии болезни.

4. При протеинурических формах неиммунных нефропатий в стадии отсутствия снижения СКФ ниже $90 \text{ мл/мин/1,73м}^2$ показан плановый прием ингибитора АПФ фозиноприла в средней дозе 0,2 мг/кг/сут для замедления прогрессирования данной патологии.

5. Для уменьшения патологического влияния артериальной гипертензии у детей необходима адекватная фармакологическая коррекция АД с применением ингибиторов АПФ, блокаторов рецепторов к ангиотензину-2, блокаторов кальциевых каналов, селективных β -блокаторов и диуретиков. Выбор препарата или комбинации препаратов обусловлен степенью выраженности артериальной гипертензии.

6. Для контроля фильтрационной функции почек у детей с прогностически неблагоприятными формами ХБП и при длительном (более 18 месяцев) приеме циклоспорина А следует исследовать сывороточное содержание цистатина С. Повышение уровня цистатина С выше 1288 нг/мл требует дальнейшего постоянного мониторинга СКФ.

7. В качестве вспомогательных методов прогнозирования течения иммунных и неиммунных форм нефропатий у детей необходимо определение сывороточного содержания комплекса молекулярных маркеров: Fas-рецептора - сигнального белка рецепторного пути реализации апоптоза, тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, просклеротических хемокинов- фибронектина, трансформирующего фактора роста- $\beta 1$ и моноцитарного хемоаттрактивного протеина-1.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Комарова О.В., Тимофеева А.Г., Сергеева Т.В., Чумакова О.В. Некоторые осложнения и побочные действия патогенетической терапии гломерулонефрита у детей // Тезисы научно-практической конференции, посвященной 75-летию НИИ Педиатрии РАМН «Проблемы детской нефрологии». – 1997. – с.40.

2. Комарова О.В., Сергеева Т.В., Чумакова О.В. Влияние кортикостероидной терапии на уровень лейкоцитов периферической крови у детей с гломерулонефритом // Материалы VIII съезда педиатров России. – 1998. – с.318.
3. Комарова О.В., Вознесенская Т.С., Чумакова О.В., Сергеева Т.В., Ряпосова А.Б. Синдром гематурии при хроническом гломерулонефрите (ГН) у детей // Ежегодный Научно-практический сборник «Эндокринные заболевания у детей актуальные вопросы педиатрии». 1998. - вып.5. – с.65-66.
4. Комарова О.В., Сергеева Т.В., Шищенко В.М., Ряпосова А.Б., Чумакова О.В. Состояние митохондриального аппарата лимфоцитов в условиях стероидной терапии у детей с гломерулонефритом // Ежегодный Научно-практический сборник «Эндокринные заболевания у детей - актуальные вопросы педиатрии». – 1998. – вып.5. – с.64-65.
5. Комарова О.В. Динамика активности СДГ лимфоцитов периферической крови у детей с хроническим гломерулонефритом в ходе лечения сверхвысокими дозами стероидов // «Новое в педиатрии»-материалы конференции молодых ученых. – Москва. – 1999. – с.22-23.
6. Комарова О.В. Изменение функционального состояния лимфоцитов периферической крови под влиянием кортикостероидной терапии у детей с хроническим гломерулонефритом // Российский педиатрический журнал. – 1999. – № 6. – с.52-53.
7. Комарова О.В., Сергеева Т.В., Цыгин А.Н., Тимофеева А.Г., Туманова Л.А. Эффективность терапии нефротического синдрома у детей сверхвысокими дозами кортикостероидов и цитостатиками // сборник материалов II съезда нефрологов России. – 1999. – с.251.
8. **Комарова О.В., Сергеева Т.В., Шищенко В.М. Цитохимический анализ крови в условиях различных схем кортикостероидной терапии // Нефрология и диализ. – 1999. – №1. – с.55-58.**
9. **Комарова О.В., Сергеева Т.В., Чумакова О.В. Влияние иммуносупрессивной терапии на уровень лейкоцитов периферической крови у детей с гломерулонефритами // Российский педиатрический журнал. – 2000. – №1. – с.32-35.**
10. Komarova O., Van der Meer W., Monnens L. Effective preservation of morphology of urinary erythrocytes by chemical preservation // *Pediatric Nephrology*. – 2001. –v.16. – № 8. – p.81.
11. Комарова О.В., Сергеева Т.В., Цыгин А.Н., Чумакова О.В., Вознесенская Т.С. Лечение гломерулонефрита у детей // Пособие для врачей. – Москва. – 2001.-28с.
12. Комарова О.В., Чумакова О.В., Сергеева Т.В., Магаршак О.О. Иммунотерапия при заболеваниях почек у детей // в книге «Иммунотерапия в педиатрии» под ред. Костинова М.П. – М. – «Медицина для всех». – 2001. – с.110-120.

13. Комарова О.В., Сергеева Т.В. Эффективность статической нефросцинтиграфии в оценке пиелонефритического сморщивания почки // «Современные методы диагностики и лечения в детской нефрологии и урологии». – Материалы II Российского Конгресса. – 2002. – с. 97.
14. Комарова О.В., Сергеева Т.В. HLA при болезнях почек // в книге Система HLA и патология человека под редакцией Баранова А.А., Каганова Б.С., Шер С.А., Богорад А.Е. – 2003. – с.108-114.
15. Komarova O., Van der Meer W., Levtchenko E, Monnens L. Effective chemical prevention of morphology of urinary erythrocytes // Pediatric nephrology.- v.18- №7. – 2003. – p. 665-667.
16. Комарова О.В., Нежданова М.В., Московская Е.Ф., Сергеева Т.В. Диагностическое значение микроальбуминурии у детей с лейкоцитурией // Сборник материалов X съезда педиатров «Пути повышения эффективности медицинской помощи детям». – 2004. – с. 372-373.
17. Комарова О.В., Сергеева Т.В. Эффективность статической нефросцинтиграфии в оценке пиелонефритического сморщивания почки // Нефрология и диализ. – 2005. – т.7. – №3. – с 365.
18. Комарова О.В., Цыгин А.Н., Сергеева Т.В., Чумакова О.В., Тимофеева А.Г. Нефротический синдром // Клинические рекомендации в педиатрии под редакцией А.А. Баранова. – 2005-2006. – (издательская группа «ГЕОТАР-медиа»). – с.107-128.
- 19. Комарова О.В., Цыгин А.Н., Суханов А.В. Циклоспорин А в лечении детей с фокально-сегментарным гломерулосклерозом // Нефрология и диализ.- 2006. – т. 8. – № 3. – с. 249-253.**
20. Комарова О.В., Сергеева Т.В., Дмитриенко С.В., Цыгин А.Н. Синдром гематурии у детей // Качество жизни. – 2006. – т.15– №4. – с. 68-71.
21. Комарова О.В., Цыгина Е.Н., Тимофеева А.Г., Сергеева Т.В., Цыгин А.Н. Исследование морфологии эритроцитов мочи у детей с синдромом гематурии // материалы V Российского конгресса по детской нефрологии. – 2006. – с. 111-113.
22. Комарова О.В., Цыгин А.Н., Суханов А.В. Эффективность терапии циклоспорином А у детей с фокально-сегментарным гломерулосклерозом // материалы V Российского конгресса по детской нефрологии. – 2006. – с. 113-114.
23. Комарова О.В., Тимофеева А.Г., Сергеева Т.В., Чумакова О.В. Влияние глюкокортикоидов на лейкопоз при хроническом гломерулонефрите/ материалы XX Конгресса педиатров России// Вопросы современной педиатрии. – 2006. – т.5. – №1. – с.785-786
24. Комарова О.В., Цыгин А.Н., Сергеева Т.В., Вознесенская Т.С., Тимофеева А.Г., Чумакова О.В. Болезни почек и мочевыводящих путей // Глава в книге по амбулаторной и поликлинической педиатрии под редакцией А.А. Баранова. – 2006. – с.258-293.

25. Komarova O., Tsygin A. Cyclosporine A treatment and renal function in children with focal and segmentary glomerulosclerosis // *Pediatric nephrology*. – 2007. – v. 22. – N9. – p.1619.
26. Комарова О.В., Цыгин А.Н., Леонова Л.В., Сергеева Т.В., Вашурина Т.В., Зробок О.И., Вознесенская Т.С., Картамышева Н.Н., Маргиева Т.В., Тимофеева А.Г. Динамика уровня сывороточного креатинина у детей с фокально-сегментарным гломерулосклерозом в условиях терапии циклоспорином А // *Нефрология и диализ*. – 2007. – т.9. – №3. – с.354.
27. Комарова О.В., Цыгин А.Н., Маргиева Т.В., Скутина Л.Е., Цыгина Е.Н., Дворяковский И.В. Диагностическая ценность и безопасность чрескожной пункционной биопсии почки под ультразвуковым контролем // *Сборник трудов VII научно- практической конференции радиологов Узбекистана «Современные методы медицинской визуализации и интервенционной радиологии»*. – Ташкент. – Узбекистан. – 2008. – с.284-285.
28. Komarova O., Tsygin A. Cyclosporine A treatment and renal function in children with focal and segmental glomerulosclerosis // *3th Europaediatrics*. – Istanbul. – Turkey. –2008. – Acta Paediatrica. – v. 97. – supplement 459. – p. 357.
29. Komarova O., Tsygin A., Sukhanov A., Margieva T., Tsygina E., Leonova L. Renal biopsy in children with isolated asymptomatic hematuris. A single center experience // *Pediatric nephrology*. – 2008. – v.23. – №9. – p.1645.
30. Комарова О.В., Вашурина Т.В., Маргиева Т.В., Цыгин А.Н., Сергеева Т.В., Сенцова Т.В., Кучеренко А.Г., Зробок О.И. Цитокины и адгезивные молекулы в патогенезе пролиферативных гломерулонефритов у детей // *Сборник материалов XII Конгресса педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии»*. – 2008. –с.421-422.
31. Комарова О.В., Мигали А.В., Акоев Ю.С., Цыгин А.Н., Пинаева А.Р., Чернаева Е.Г., Аршба С.К., Мигали И.И. Иммуно-костная дисплазия Шимке у ребенка 1,5 лет // *Сборник материалов XII Конгресса педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии»*. –2008– с.480-481.
- 32. Комарова О.В., Цыгин А.Н. Применение эритропозстимулирующих препаратов у детей с хронической болезнью почек // Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2008. – т.7. – №2. – с. 36-39.**
33. Комарова О.В. Дворяковский И.В., Яцык Г.В., Цыгин А.Н., Дворяковская Г.М., Скутина Л.Е., Яцык С.П., Шарков С.М, Турти Т.В., Цыгина Е.Н. Случай ультразвуковой диагностики грибкового поражения почек у ребенка грудного возраста // *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. – 2008. – №3. – с.52-58.
34. Komarova O., Tsygin A., Smirnov I., Kucherenko A. Cystatin C as a marker of glomerular filtration rate in children with chronic kidney diseases // *4th Europaediatric Congress – Moscow*. –2009. – R267. – p.312.

35. Komarova O., Sergeeva T., Kartamysheva N., Margieva T., Timopheeva A., Tsygin A. Anemia and arterial hypertension as symptoms of progress of chronic renal diseases in children // 4th Europaediatric Congress – Moscow.– 2009. – R491. – p.580.
36. Комарова О.В., Цыгин А.Н., Рожкова М.В., Леонова Л.В., Зробок О.И., Вашурина Т.В. **Терапия циклоспорином А детей с ФСГС // Вопросы современной педиатрии. - 2009. – т.8. – №5. – с.93-97.**
37. Борисов В.В., Вашурина Т.В., Вознесенская Т.С., Зробок О.И., Картамышева Н.Н., Козловская Л.В., Комарова О.В., Кутырина И.М., Маргиева Т.В., Сергеева Т.В., Сигитова О.Н., Фомин В.В., Цыгин А.Н., Швецов М.Ю., Шилов Е.М. Клинические рекомендации по синдромам // В книге Нефрология: национальное руководство под ред. Н.А. Мухина,. – 2009. – (ГЕОТАР-медиа). – с.720.
38. Комарова О.В., Тимофеева А.Г., Сергеева Т.В., Маргиева Т.В., Вознесенская Т.С., **Значение цистатина С крови для оценки клубочковой фильтрации у детей с хронической болезнью почек // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2010. – т.19- №3. – с. 34-35.**
39. Комарова О.В., Сергеева Т.В., Картамышева Н.Н., Маргиева Т.В., Вознесенская Т.С. **Иммуносупрессивная терапия при нефротическом синдроме у детей // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2010. – т.19-№3. – с. 63-64.**
40. Комарова О.В., Рожкова М.В., Кучеренко А.Г., Смирнов И.Е., Леонова Л.В., Цыгин А.Н. **Цистатин С как маркер нефротоксичности циклоспорина у детей с нефротическим синдромом // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – №1. – т. 9. – с.131-135.**
41. Комарова О.В., Сергеева Т.В., Картамышева Н.Н., Маргиева Т.В. **Клинико-функциональные параллели при ХБП у детей // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2010. – т.19-№3. – с. 56.**
42. Комарова О.В., Матвеева М.В., Леонова Л.В., Тимофеева А.Г., Цыгин А.Н. **Эффективность и безопасность пролонгированной терапии циклоспорином детей с ФСГС // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – №4. – т. 9. – с.155-159.**
43. Комарова О.В., Цыгин А.Н, Кучеренко А.Г, Смирнов И.Е. **Цистатин С как маркер почечных функций у детей с ХБП // Нефрология и диализ. – 2010. – №4.- с. 272-274**
44. Комарова О.В., Отрощенко Е.С. Леонова Л.В., Тимофеева А.Г., Цыгин А.Н. **Эффективность комбинированной фармакологической блокады РААС у детей с ХБП // Педиатрическая фармакология. – 2010. – т. 7. – №2. – с.105-109.**
45. Комарова О.В. **Хроническая болезнь почек. Современные представления // Российский педиатрический журнал. – 2011. – № 4. –с.47-49.**

46. Комарова О.В., Матвеева М.В., Цыгин А.Н. Синдром Барттера. Клиническая задача // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2012. – т. 4. – №1. – с.59-60.
47. Комарова О.В., Сергеева Т.В., Картамышева Н.Н., Маргиева Т.В., Молчанова Е.А., Вознесенская Т.С., Тимофеева А.Г., Вашурина Т.В., Зробок О.И., Дмитриенко С.В., Мазо А.М., Цыгин А.Н. Клинико-функциональные параллели при хронической болезни почек у детей // Педиатрическая фармакология. – 2012. – т. 9. – №4. – с. 64-68.
48. Комарова О.В., Потемкина А.П., Маргиева Т.В., Повилайтите П.Е., Леонова Л.В., Вашурина Т.В., Зробок О.И., Цыгин А.Н. Характеристика гломерулярной гематурии у детей // Педиатрическая фармакология. – 2012. – т. 9. – №3. – с.46-50.
49. Комарова О.В., Цыгин А.Н., Кучеренко А.Г., Смирнов И.Е., Костюшина И.С. Эндотелиальная дисфункция при хронической болезни почек у детей // Российский педиатрический журнал. – 2012. – № 5. – с. 23-26.
50. Комарова О.В., Костюшина И.С., Мазо А.М., Маргиева Т.В., Дворяковский И.В., Цыгин А.Н. Роль показателей центральной гемодинамики, толщины комплекса интима-медиа и эндотелиальной дисфункции у детей с ренальной артериальной гипертензией // Педиатрическая фармакология. – 2013. – т. 10. – №3. – с.32-37.
51. Комарова О.В., Кучеренко А.Г., Смирнов И.Е., Цыгин А.Н. Роль нарушений процессов апоптоза в прогрессировании хронической болезни почек у детей // Нефрология и диализ. – 2013. – т 15. -№2. – с. 135-139.
52. Комарова О.В., Кучеренко А.Г., Смирнов И.Е., Цыгин А.Н. Динамика содержания сывороточных маркеров апоптоза для оценки прогноза хронической болезни почек у детей // Вопросы современной педиатрии. – 2013. – т. 12. – №5. – с.62-65.
53. Комарова О.В., Хворостов И.Н., Герасимова Н.П., Кучеренко А.Г., Смирнов И.Е., Зоркин С.Н. Нефросцинтиграфия и цитокины в диагностике поражений почек при пузырно-мочеточниковом рефлюксе у детей // Российский педиатрический журнал. – 2013. – № 2. – с.20-26.
54. Komarova O.V., Matveeva M., Kucherenko A.G., Leonova L., Vashurina T.V., Zrobok O.I., Tsygin A.N. Assessment of Cyclosporine A Efficacy and Safety in Childhood Steroid-Resistant and Steroid-Dependent Nephrotic Syndrome // *Pediatr Nephrol.* – 2013. –v.28. –№8 – p.1689.
55. Komarova O., Margieva T., Vashurina T., Zrobok O., Timofeeva A., Smirnov I., Tsygin A. Endothelial dysfunction in steroidresistent pediatric nephritic syndrome // 6th *Europaediatrics.* –2013. –5-8 June. – Glasgow, UK. – p.52.
56. Komarova O., Smirnov I., Kucherenko A., Sergeeva T., Tsygin A. Cystatin C as a marker of renal functions in children with CKD // 6th *Europaediatrics.* –2013. – 5-8 June. – Glasgow, UK. – p.164.

57. Komarova O., Timofeeva A., Matveeva M., Kucherenko A., Leonova L., Vashurina T., Tsygin A. Assessment of cyclosporine A efficacy and safety in childhood steroidresistant nephrotic syndrome // 6th Europaediatrics. –2013. – 5-8 June. – Glasgow, UK. –p.164.
58. Komarova O., Smirnov I., Gerasimova N., Komarova N. Radionuclide method for investigation of the volume of functionally active renal tissue in children //6th Europaediatrics. –2013. –5-8 June. – Glasgow, UK. –p.166.
59. Komarova O., Tsygin A., Kucherenko A., Smirnov I., Timofeeva A. Role of endothelium dysfunction in children with chronic kidney disease //27th International Congress of pediatrics. –2013. –24-29 August. –Melbourne, Australia – p.749.
60. Komarova O., Smirnov I., Gerasimova N., Komarova N. Radionuclide method for functional investigation the renal parenchyma in children//27th International Congress of pediatrics. –2013. –24-29 August. –Melbourne, Australia – p.760.