

Значение генетики и протеомики в понимании механизмов развития и прогрессирования нефротического синдрома у детей

М.С. Игнатова, О.В. Шатохина, Л.С. Приходина
ФГУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии Росмедтехнологий», г. Москва

The role of genetics and proteomics in understanding the mechanisms of progression of nephrotic syndrome in children

M.S. Ignatova, O.V. Shatokhina, L.S. Prikhodina

Ключевые слова: генетика, нефротический синдром, дети, белки, протеомика.

Под нефротическим синдромом (НС) понимается клинический симптомокомплекс, включающий:

- протеинурию с потерей белка с мочой 3 и более граммов за сутки у взрослых, ≥ 50 мг/кг/24 ч или ≥ 40 м²/ч (утренняя порция) у детей;
- гипопроteinемия с гипоальбуминемией (альбумин плазмы ≤ 25 г/л);
- гиперлипидемию, включающую гиперхолестеринемия и триглицеридемию;
- отеки (не обязательно, так как возможен «неполный», безотечный НС).

В связи с бурным развитием генетики, которое произошло после открытия генома человека, в ведущих нефрологических изданиях появились публикации, указывающие на необходимость изучения нефрологами основ генетики, что позволит улучшить диагностику, в том числе различных вариантов НС, и облегчит выбор терапевтической тактики [40].

Существуют различные классификации НС. В настоящее время у детей наиболее приемлемой может быть следующая классификация:

I. Врожденный и инфантильный НС:

- НС финского типа с первичным поражением базальных мембран клубочковых капилляров и микрокистозом канальцев (мутация в гене *NPHS1* на 19-й хромосоме);
- семейный НС, нередко связанный с мутацией гена *NPHS2* на хромосоме 1q25–1q31;
- семейный аутосомно-доминантный стероидрезистентный НС (фокально-сегментарный гломерулосклероз – ФСГС), связанный с мутацией в гене *ACTN4*, кодирующем α -актинин-4;
- НС при синдромах Дениса–Драша и Фрайзера, связанный с мутацией в гене *WT1* и сочетающийся с псевдогермафродитизмом.

II. Первичный НС при гломерулонефрите (ГН):

- с минимальными изменениями в гломерулах (НСМИ);
- при ФСГС/гиалинозе;
- при мембранопротеративном ГН (МБПГН);
- мезангиопротеративном ГН (МзПГН);
- фибропластическом ГН;
- при мембранозной нефропатии (МН);
- при ГН различных морфологических типов, ассоциированных с *Herpes viridae* (ВПГ 1-го и 2-го типов, ЦМВ, ВЭБ).

III. Вторичный НС:

- при внутриутробных инфекциях (токсоплазмоз, ЦМВ, врожденный сифилис и др.);
- при инфекционных заболеваниях (туберкулез, малярия, гепатит В и С, сифилис, СПИД и др.);
- при системных заболеваниях соединительной ткани, системных васкулитах;
- при структурном дизэмбриогенезе почечной ткани, включая гипопластическую дисплазию;
- при болезнях обмена (нарушении метаболизма триптофана, гликогенозе, диабете, амилоидозе и др.);
- при тромбозе почечных вен;
- при наследственных болезнях и синдромах (Альпорта, Клиппеля–Треноне, галактосиалидозе, периодической болезни и др.);
- при хромосомных болезнях (синдром Орбели, болезнь Дауна и др.).

В настоящее время расшифрован целый ряд генов, мутации в которых ответственны за развитие некоторых форм врожденного и инфантильного НС (табл. 1).

В последние годы, кроме вышеперечисленных, выявлены варианты НС, которые развиваются при мутациях в ряде других генов:

- *LAMB-2*, ответственного за функциональное состояние ламинина [15];

Адрес для переписки: 125412, г. Москва, ул. Талдомская, д. 2. МНИИ педиатрии и детской хирургии МЗ и СР РФ, отделение наследственной и приобретенной патологии

Телефон: 488-51-13. Игнатова Майя Сергеевна

E-mail: nepbrolog@pedklin.ru

Гены и их локализация при различных вариантах НС

| Заболевания с НС | Наследование | Локализация | Ген | Структура гена | Продукт гена | Морфологический вариант |
|----------------------------------|--------------|-------------|--------------|-------------------|-------------------------------|-------------------------|
| НС финского типа | АР | 19q12–q13 | <i>NPHS1</i> | 26 kb, 29 экзонов | Нефрин | ДМС |
| СРНС с ФСГС | АР | 1q25–q31 | <i>NPHS2</i> | 2 kb, 8 экзонов | Пододцин | ФСГС |
| ДМС изолированный | ? (АР) | 11p13 | <i>WT1</i> | 50 kb, 10 экзонов | Белок, регулятор транскрипции | ДМС |
| Синдром Дениса–Драша | ? (АР) | 11p13 | <i>WT1</i> | | | ДМС |
| Синдром Фрайзера | ? (АР) | 11p13 | <i>WT1</i> | | | ФСГС |
| НС с ФСГС, аутосомно-доминантный | | | | | | |
| ФСГС 1 | АД | 19q13 | <i>ACTN4</i> | – | α -актинин | ФСГС |
| ФСГС 2 | АД | 11q21–q22 | Неизвестен | – | – | ФСГС |

Примечание. АР – аутосомно-рецессивный; АД – аутосомно-доминантный; ДМС – диффузный мезангиальный склероз.

– *TRPC6* – катионных каналов почек [44];

– *PLCE1* – фосфолипазы С [17].

Так как происхождение многих вариантов НС остается неизвестным, можно полагать, что в недалеком будущем появятся описания мутации и в других генах, ответственных за развитие НС.

В 1998 г. S. Cameron очень образно охарактеризовал НС как протеинурически-альбуминурический отек [7]. В основе НС лежит протеинурия, которая приводит к снижению альбумина крови, а затем и к развитию отека. Реальное понимание механизмов развития протеинурии, как основы НС, связано с изучением подоцитов, их белков и генов, управляющих синтезом этих белков.

Подоцит представляет собой эпителиальную клетку, совокупность этих клеток составляет третий слой фильтрующей мембраны клубочка (первый – это эндотелий капилляров, второй – базальная мембрана, отделяющая эндотелиальные и эпителиальные клетки). Каждый подоцит имеет «тело» и первичные, вторичные и третичные отростки, которые носят название «ножек» или педиклов, при помощи которых подоциты прикрепляются к базальной мембране клубочка. Между отростками подоцитов находится щелевая мембрана, нередко называемая щелевой диафрагмой. Подоциты в нормальных условиях выполняют несколько важных функций:

1) обеспечивают синтез некоторых белков гломерулярной базальной мембраны (ГБМ);

2) регулируют растяжимость клубочкового капилляра;

3) ограничивают прохождение в мочевое пространство отрицательно заряженных белков.

Подоцит обладает высокоорганизованным цитоскелетом [5]. Тело подоцита имеет сложное строение, состоит из белков виментина и десмина. От тела подоцита отходят крупные отростки, которые охватывают значительную поверхность капилляра. Малые отростки (вторичные, третичные) отходят от больших почти перпендикулярно, переплетаются и перекрывают почти все пространство ГБМ. Малые отростки имеют в своем составе актиновые нити, которые способны сокращаться. Актиновые нити состоят из актина, миозина II и α -актина-4 [11]. **α -актинин-4** выполняет функцию связывания протеинового комплекса щелевой мембраны и белкового комплекса ГБМ. Отмечена роль α -актина-4 в патогенезе протеинурии. Мутация в гене α -актина-4 приводит к

развитию ФСГС с аутосомно-доминантным типом наследования, преимущественно у взрослых пациентов [22] (табл. 1).

Цитоскелет подоцита связан с ГБМ посредством интегринов. Установлено, что $\alpha_3\beta_1$ -интегрин сцеплен высокоаффинной связью с α_5 -цепью ламинина-11 и низкоаффинной с другими компонентами ГБМ. Связь подоцита с ГБМ осуществляется также с помощью дистрогликановых комплексов. Отмечено высокое сродство дистрогликановых комплексов к ламинину и актину, что обеспечивает в нормальных условиях трехслойность ГБМ. При НСМИ отмечается снижение количества либо отсутствие дистрогликановых комплексов в ГБМ, тогда как при ФСГС дистрогликановые комплексы сохранены [16].

Подоцитарная мембрана имеет базальную и апикальную части, последняя переходит в щелевую мембрану. Толстый слой подоцитарной мембраны покрыт гликокаликсом, несущим отрицательный заряд. Гликокаликс богат сиалопротеинами, среди которых важнейшими являются подокаликсин и подоэндрин [23]. Подокаликсин – белок, который экспрессируется не только в подоцитах, но и в эндотелиоцитах, мегакариоцитах и тромбоцитах. Именно подокаликсин играет ключевую роль в сохранении архитектоники подоцитов, поэтому его обнаружение в моче свидетельствует о нарушении цитоскелета подоцитов, что и наблюдается при НС. Важным белком гликокаликса является гломерулярный эпителиальный белок-1 (GLEPP-1), который участвует в регуляции внутриклубочкового давления и фильтрации.

Щелевая мембрана содержит большое количество чрезвычайно важных для ее функции белков. Центральную роль в функционировании щелевой мембраны играет нефрин [24]. Кроме ранее изученного белка *zonula occludens-1* (ZO-1), в настоящее время известны: CD2-ассоциированный белок (*CD2AP*), подоцин, кадгерин Р, синаптоподин, FAT, денсин, входящие в состав щелевой мембраны (табл. 2). Описано также новое семейство белков NEPH, структурно связанных с нефрином [10]. В настоящее время установлена возможность развития НС из-за мутации в генах, регулирующих функцию большинства из вышеперечисленных белков [6].

Важная роль каждого из указанных белков в развитии протеинурии требует специального их описания. **Нефрин** – трансмембранный белок, относящийся к семейству иммуноглобулинов с адгезивными функ-

Таблица 2

Основные белки щелевой диафрагмы и их функция

| | Молекулярная масса | Локализация гена | Функция |
|---------------------|--------------------|------------------|---|
| Нефрин | 185 кДа | 19q13.1 | Связывает два подоцита. Формирует щелевую мембрану. Регулирует деятельность клубочкового фильтра |
| <i>NEPH1</i> | 67 кДа | 1q21–q25 | Связаны с С-терминалом подоцита и ZO-1. Выполняют функцию межклеточного взаимодействия подоцитов. Участвуют в клеточной адгезии |
| <i>NEPH2</i> | 86 кДа | 11q24 | |
| <i>NEPH3</i> | 75 кДа | 19q13.1 | |
| Подоцин | 42 кДа | 1q25–q31 | Связывает нефрин и CD2AP через липидные мостики с формированием щелевой мембраны. Участвует в функции ионных каналов цитоскелета, соединяясь с актинином |
| α -актинин-4 | 100 кДа | 19q13 | Формирует цитоскелет. Связывает между собой белковые комплексы щелевой мембраны и базальных белков |
| Аргин | 150 кДа | | Участвует в обеспечении отрицательного заряда гликокаликса и регуляции деятельности клубочкового фильтра |
| Подокаликсин | 150 кДа | | Обеспечивает отрицательный заряд гликокаликса. Формирует архитектуру подоцита, связываясь с эзрином |
| GLEPP-1 | | | Трансмембранный белок с рецепторными функциями. Регулирует внутриклубочковое давление и деятельность клубочкового фильтра |
| ZO-1 | 42 кДа | | Белок трансмембранного комплекса. Связывает нефрин и <i>NEPH1</i> с актининовым комплексом цитоскелета |
| <i>CD2AP</i> | 80 кДа | | Белок трансмембранного комплекса, связывается (через SH3-терминал) с рецепторным белком CD2-лимфоцитов. Поддерживает цитоскелет, соединяясь с актином (через N-терминал). Регулирует деятельность клубочкового фильтра |
| Синаптоподин | 110 кДа | | В комплексе с актинином образует цитоскелет подоцита |
| Деснин | 210 кДа | | Белок щелевой мембраны (связывается с нефрином). Белок «полярных» клеток (подоцит, нейрон), определяющий апикально-базальную полярность мембраны. Соединяясь с α -актинином, опосредованно влияет на цитоархитектуру |
| ФАТ | 516 кДа | | Белок щелевой мембраны. Связывает адгезивные компоненты с цитоскелетом подоцитов через каттерин-ассоциированный комплекс |
| Каттерин Р | 120 кДа | | Белок щелевой мембраны. Внеклеточная часть выполняет адгезивные функции, внутриклеточная часть связана с α -актинином и ZO-1 |

циями, состоит из 1241 аминокислоты и имеет три отличающиеся области распространения: внеклеточную, трансмембранную и внутриклеточную. Внеклеточная область состоит из 8 иммуноглобулиновых частей и одной фибронектиновой. Изучение структуры нефрина дает основание полагать, что он связывает два подоцита, формируя щелевую мембрану (диафрагму) [13]. Развитие врожденного НС, обусловленного мутацией в гене *NPHS*, доказывает роль нефрина в регуляции деятельности клубочкового фильтра [33].

Изучение врожденного НС финского типа наиболее активно ведется с момента обнаружения гена *NPHS1*, который состоит из 29 экзонов, причем у представителей финской национальности встречается только две мутации: делеция во 2-м экзоне – Fin-major и нонсенс-мутация в 26-м экзоне – Fin-minor [24] (табл. 1). У лиц иной национальности, страдающих врожденным НС финского типа, описано более 60 различных мутаций, отличных от тех, которые встречаются у финнов. Мутация в гене *NPHS1* ведет к нарушению синтеза нефрина, и в щелевой мембране нефрин не выявляется. Эти изменения сказываются на архитектонике подоцита, что приводит к сглаживанию его «ножек» и появлению протеинурии [10]. Генетически обусловленное отсутствие нефрина при финском типе НС нередко является причиной рецидивов НС в трансплантированной почке, так как у этих больных вырабатываются антитела к нефрину трансплантата [34].

Семейство белков *NEPH* состоит из *NEPH1*, *NEPH2*, *NEPH3*, которые имеют общую структуру и взаимодействуют с ZO-1 и подоцином. В эксперименте на мышах показано, что мутантный ген *NEPH1* ведет к развитию НС [10].

Подоцин – интегральный мембранный белок, который в основном экспрессируется в подоцитах клубочков, где замыкает нефрин, и таким путем входит в щелевую мембрану [38]. Подоцин, подобно нефрину и белку *CD2AP*, связан с щелевой диафрагмой липидными мостиками. Роль подоцита в формировании НС связана с геном, кодирующим этот белок. Мутации в гене подоцита *NPHS2* приводят к невозможности фиксировать нефрин на щелевой мембране, следствием чего является развитие протеинурии и НС, преимущественно в семейных случаях. При стероидчувствительном НС (СЧНС) не обнаруживается мутаций в гене подоцита [39]. В исследовании Л.С. Приходной в нефрологической клинике ФГУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии Росмедтехнологий», проведенном совместно с сотрудниками Медико-генетического центра РАМН, у 50 детей со спорадическим стероидрезистентным НС (СРНС) выявлена ранее не описанная гетерозиготная нонсенс-мутация *c.259 G > T (p.87Glu > X)* в экзоне 1 гена *NPHS2* у одного ребенка с ФСГС. Полученные результаты исследования свидетельствуют о низкой частоте мутаций в гене *NPHS2*, составившей 2% у детей со спорадическим СРНС, что

может рассматриваться в качестве свидетельства генетической гетерогенности СРНС у российских детей. Эти данные не противоречат литературным, указывающим на большие различия частоты встречаемости мутантного гена в различных популяциях.

При ФСГС отмечено либо резкое уменьшение экспрессии подоцина, либо его отсутствие [19]. При гистологическом исследовании биоптатов почек у пациентов с НС, вызванным мутациями в гене подоцина, выявлялся, как правило, ФСГС. В эксперименте на мышах при потере гена подоцина развивалась клиническая и морфологическая картина, близкая финскому типу НС, с появлением типичных микрокист тубулярного эпителия. Эти экспериментальные данные близки клиническим наблюдениям, когда у одного и того же больного выявляется мутация в 2 генах – *NPHS1* и *NPHS2* [28]. В отличие от финского типа НС при мутации в гене подоцина антиподоцитарные антитела у реципиентов после трансплантации почки не появляются и возникновение НС в трансплантированной почке встречается чрезвычайно редко.

ZO-1 – мембранный белок, который представлен в почках еще на стадии S-образного тельца в процессе эмбриогенеза. На стадии развития капиллярных петель ZO-1 и нефрин обнаруживаются в развивающейся щелевой диафрагме. В зрелой ткани α -изоформа ZO-1 выявляется в подоцитах возле вставочных участков щелевой мембраны. ZO-1, взаимодействуя с нефрином и *NEPH1*, связывает их с актиновым комплексом цитоскелета подоцита. Заболеваний у человека из-за мутации гена, кодирующего ZO-1, в настоящее время не обнаружено.

CD2AP (CD2-ассоциированный протеин) известен из-за его связи с рецепторным белком Т-клеток. Однако *CD2AP* необходим для нормального функционирования фильтрационной мембраны почек. При исследовании 45 больных с ФСГС было обнаружено, что у двоих имеются гетерозиготные мутации в гене *CD2AP* [26]. Ряд исследований показывает связь *CD2AP* с нефрином. Этот белок локализован вместе с маркером «ножек» подоцитов – синаптоподином [8].

Синаптоподин является маркером педикул подоцитов, связан с актином, что обеспечивает функцию подоцитов. Как и нефрин, синаптоподин включен в структуру подоцитов, а его ассоциация с актином определяет его роль в функции подоцитов [31]. Значительное влияние на синаптоподин подоцитов оказывает ангиотензин II, под воздействием которого синаптоподин разрушается, что ведет к изменению фенотипа подоцитов, слиянию педикул и склонности к склерозу клубочков. Проведены исследования экспрессии синаптоподина и гломерулярного эпителиального протеина-1 (GLEPP-1) у больных с НС при первичном ФСГС. Оказалось, что экспрессия обеих белковых субстанций резко снижена у этих больных, причем развивается СРНС [18].

Денсин – сравнительно недавно открытый белок, который экспрессируется в щелевых мембранах подоцита, что дает ему возможность взаимодействовать с нефрином [4].

Каттерины – семейство трансмембранных адгезивных белков, которые «привязывают» адгезивные компоненты к цитоскелету подоцитов благодаря кад-

герин-ассоциированному комплексу, включающему α -, β -, γ -катенины и α -актинин [27].

Каттерин П (cadherin P) совместно с нефрином и ZO-1 проявляет наибольшую активность в периоде эмбриогенеза на стадии S-образного почечного тельца. В зрелой почке его активность значительно снижена и выявляется в области щелевой мембраны. У мышей, дефицитных по каттерину П, протеинурия не выявляется, что ставит под сомнение его существенную роль в построении щелевой диафрагмы [37].

Каттерин ФАТ (cadherin FAT) – наиболее крупный каттерин, имеющий 34 кадгерин-подобных внеклеточных повтора, трансмембранный участок и внутриклеточную часть, связанную с β -катенином. ФАТ найден в подоцитах, клетках париетального эпителия, в эпителии собирательных трубочек и эндотелиальных клетках [21]. В эксперименте на мышах показано, что при отсутствии гена, кодирующего каттерин FAT, животные погибают в антенатальном периоде и в почках выявляется ФСГС.

По-видимому, расшифрованы еще не все белки, входящие в состав подоцитов. В 2006 г. Y. Tsubata с соавт. [42] сообщили о впервые выявленном новом белке, назвав его «чужеродный воспалительный фактор-1 (**allograft inflammatory factor-1, AIF-1**)». По полученным в эксперименте на крысах данным, этот белок играет важную роль в развитии анти-ГБМ нефрита, протекающего с тяжелым НС.

Большая часть генов, кодирующих перечисленные белки щелевой мембраны, может быть ассоциирована с развитием НС (табл. 2). К ним относятся ген *NPHS1*, кодирующий нефрин, ген *NPHS2*, продуктом которого является подоцин, ген *ACTN4*, ответственный за α -актинин-4, ген CD2-ассоциированного протеина – *CD2AP*. Однако развитие НС возможно и при мутации других генов, чаще в случаях генетически детерминированных синдромов. Наиболее изученным в этом отношении оказывается ген *WT1*, который длительное время рассматривался только с позиции супрессора опухоли Вильмса. В настоящее время известна его многогранность в плане формирования мочеполовой системы и возможности при мутации в этом гене развития синдромов Дениса–Драша и Фрайзера [3].

Под нашим наблюдением находятся дети с синдромами Фрайзера и Дениса–Драша (табл. 3).

При различных генетически детерминированных синдромах, связанных с хромосомными аномалиями, имеет место поражение органов мочевой системы (ОМС) [2]. Однако при хромосомных аномалиях поражение почек и ОМС очень редко является причиной обращения к врачу и определяет прогноз заболевания. В этом плане можно лишь упомянуть синдром Орбели, при котором морфологической основой является кистозная дисплазия почек, а первые клинические проявления представлены СРНС [1]. В настоящее время изучены механизмы развития вторичного НС при многих генетически детерминированных заболеваниях, развитие которых связано с мутациями в генах, функция которых уже определена (табл. 4).

В настоящее время, кроме выявления моногенно-наследуемых вариантов НС, стоит проблема определения генетических маркеров предрасположенности к развитию НС и его прогрессированию. В 2004 г.

Таблица 3

Характеристика детей с синдромами Дениса–Драша и Фрайзера

| Больной, № п/п | Возраст, годы | Возраст при манифестации НС | Социальный пол | Гонады | Кариотип | Данные нефробиопсии | ДНК-анализ | Диагноз |
|----------------|---------------|-----------------------------|----------------|---------|----------|---------------------|------------|------------------|
| 1 | 15 | 2 | Женский | Мужские | 46,XY | ФСГС | + | С-м Фрайзера |
| 2 | 15 | 4 | Женский | Мужские | 46,XY | – | – | С-м Фрайзера |
| 3 | 7 | 2 | Женский | Мужские | 46,XY | ДМС | – | С-м Дениса–Драша |
| 4 | 9 | 5 | Женский | Мужские | 46,XY | – | – | С-м Дениса–Драша |
| 5** | 13* | С рождения | Мужской | Мужские | 46,XY | – | – | С-м Дениса–Драша |
| 6** | 5 | 1,2 | Женский | ? | 46,XX | ДМС | + | С-м Дениса–Драша |

Примечание. Больным под номерами 1 и 6 успешно проведена почечная трансплантация.

*Летальный исход от ХПН.

**Наличие опухоли Вильмса.

Таблица 4

Клинические особенности течения НС у детей с генетическими заболеваниями

| Диагноз | Дебют НС, годы | Возраст т-ХПН | Отеки | Протеинурия, мг/кг/24 ч | Нефробиопсия |
|-------------------------------|----------------|---------------|-------|-------------------------|----------------------------|
| АД, семейный НС | 2,0 | 13,2 | + | 300 | Гипопластическая дисплазия |
| АД, семейный НС | 2,0 | – | – | 187 | МзПГН |
| Галактосиалидоз | 1,0 | 3,5* | + | 331 | – |
| Периодическая болезнь | 9,0 | 10,6 | + | 475 | Амилоидоз |
| С-м Альпорта | 1,7 | 17 | – | 102 | С-м Альпорта |
| С-м Альпорта | 9,0 | – | – | 199 | С-м Альпорта |
| С-м Галловей–Моват | 1,2 | 3,5* | + | 235 | – |
| С-м Дениса–Драша | 1,5 | 5,3 | + | 367 | ДМС |
| С-м Дениса–Драша | 1,3 | 12,6 | – | 50 | – |
| С-м Дениса–Драша | 1,2 | 9,5 | + | 508 | ДМС |
| С-м Дениса–Драша | С рожд. | 1,8 | + | 471 | – |
| С-м Кляйнфельтера | С рожд. | 2,5 | + | 471 | – |
| С-м Коккейна | 4,6 | – | – | 257 | – |
| С-м Лоу | 0,10 | ? | + | 408 | – |
| С-м Орбели | 0,5 | 9,1* | + | 1600 | Кистозная дисплазия почек |
| С-м Фрайзера | 2,0 | 14,2 | – | 39 | ФСГС |
| С-м Фрайзера | 4,0 | 15,2 | – | 50 | – |
| С-м Шерешевского–Тернера | 5,0 | 10,2* | + | 417 | ФСГС |
| С-м Шерешевского–Тернера | С рожд. | 0,8* | + | 953 | – |
| Спондилоэпифизарная дисплазия | 1,10 | ? | + | 860 | ФСГС |

* Смерть в результате т-ХПН.

S.-D. Kim с соавт. провели исследования ассоциации полиморфизма интерлейкинов ИЛ-1 β и ИЛ-1 α у детей со СЧНС в сравнении с контролем, и оказалось, что у больных отмечается высокая частота аллеля ИЛ1RN*2 [26]. Это позволяет предполагать, что обнаружение такого аллеля у ребенка может быть фактором, способствующим развитию СЧНС. Проведено исследование взаимоотношения белков подоцитов, когда нет одной единственной мутации гена, ответственного за наследственный НС. Оказалось, что обнаруживается взаимосвязь с уменьшенным или увеличенным содержанием таких белков, как нефрин, подоцин, CD2AP и α -актинин, которое наблюдается при приобретенном НС [12]. Это, по-видимому, свидетельствует о важной роли в развитии любого варианта НС белков подоцитов.

Кроме наследственных мутаций, возможно приобретенное повреждение белков подоцитов. Одним из изучаемых в настоящее время факторов, влияющих на функцию подоцитов, является оксидативный стресс [30]. Суть влияния оксидативного стресса исследуется в эксперименте на крысах, и, как показы-

вают исследования, отмечается повреждение ДНК, что в конечном результате ведет к нарушению внутриклеточного метаболизма.

При изучении роли генетических факторов прогрессирования СРНС Л.С. Приходина совместно с сотрудниками Медико-генетического центра РАМН провела исследования полиморфизмов генов ангиотензиногена (АТГ) М/Т М235, ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) I/D и блокаторов ангиотензина II (АТ II) А/С А 1166С [35]. Оказалось, что у пациентов с нормальной скоростью клубочковой фильтрации (СКФ), т. е. при отсутствии склонности к прогрессированию СРНС, преобладали следующие полиморфизмы: I/I гена АПФ, Т/Т гена АТГ и С/С гена АТ II. У больных детей со сниженной СКФ (<60 мл/мин/1,73 м²) преобладали аллели I/D, D/D гена АПФ, М/Т генотип АТГ и А/С гена АТ II. Эти различия должны, очевидно, учитываться наряду с клиническими проявлениями болезни как возможные генетические факторы прогрессирования заболевания.

В плане определения генетических маркеров прогрессирования был изучен также полиморфизм гена

эндотелиальной синтазы оксида азота (*e-NOS*). Было установлено, что при прогрессировании СРНС у детей отмечаются генотипы 4a/4a 27bp, гомозиготы С/С и Т/Т Т786С, а также E/D E298D, на что также следует обращать внимание при наблюдении за развитием СРНС [36].

Проблемой остаются трудности генетических исследований при целом ряде врожденных множественных пороков, а также при генетических заболеваниях, когда необходима расшифровка структуры белка, являющегося продуктом мутированного гена. На помощь геномике в последние годы приходит протеомика.

Протеомика дает возможность по-новому подойти к функциональной генетике [9]. Генотип организма остается постоянным на протяжении всего времени его существования. Однако в процессе развития у некоторых животных, в частности у насекомых, при неизменном генотипе резко меняется структурная организация – фенотип, что связано с изменениями их протеомы. Протеомика может сыграть существенную роль в трансляции достижений геномики в клиническую практику, так как имеет возможность выявлять маркеры патологических процессов. Дополнительно к двумерному электрофорезу в геле проведение масс-спектрометрии структуры белков приводит к реальной возможности составить каталог различных белковых молекул и определить количество белков, присутствующих в моче и различных тканях в нормальных условиях и при патологических процессах.

Протеомика становится новым диагностическим методом, применение которого возможно и в оценке динамики патологического процесса [43]. В последнее время быстро нарастает количество информации о характере структуры белков при различных патологических процессах, основное внимание уделяется тубулярным заболеваниям, в том числе синдрому Фанкони [32]. Определенный опыт накоплен и при определении белков мочи при почечной карциноме, и при развитии отторжения трансплантата [41]. Имеются данные, позволяющие с помощью протеомики выявлять признаки токсического воздействия наglomerулы [14]. В работе V. Kumar с соавт. (2002) на основании результатов двумерного гелевого электрофореза и масс-спектрометрии проведен сравнительный анализ белков мочи у трех групп больных: с хронической почечной недостаточностью (ХПН), НС и микроальбуминурией, связанной с наличием сахарного диабета [29]. При обследовании 25 пациентов оказалось, что при ХПН в моче определялись низкомолекулярные белки, а при НС белки с высоким молекулярным весом (α_1 -антитрипсин, Zn- α_2 -гликопротеин, α_1 -микроглобулин и α_1 -кислый гликопротеин-2). Три последних белка определялись также и при микроальбуминурии, как правило, связанной с поражением почек при сахарном диабете. Общим белком для больных с ХПН и НС был, кроме альбумина, только α -антитрипсин. Следы тубулярных белков определялись не только при ХПН, но у некоторых больных при НС и пациентов с микроальбуминурией, что, по мнению авторов, может быть показателем прогрессирования нефропатии.

Протеомика входит в жизнь и педиатрической нефрологии. В связи с тем что в последние годы продолжает увеличиваться количество детей со СРНС, становится актуальным неинвазивное обследование ребенка до назначения стероидной терапии. Результаты морфологического исследования, которое, как правило, проводится уже после констатации стероидрезистентности, могут быть недостаточными, так как даже при НСМИ иммуносупрессивная терапия не всегда дает хороший терапевтический эффект. В то же время ФСГС, как наиболее неблагоприятный морфологический вариант НС, может оказаться чувствительным к иммуносупрессантам, в том числе и глюкокортикоидам. Это явилось основанием для исследования протеомики у детей со СЧНС/СЗНС и СРНС [25]. Результатом исследования оказалось, что биомаркером стероидорезистентности был β_2 -микроглобулин. Авторы считают, что в результате воздействия антител к β_2 -микроглобулину уменьшается его молекулярный вес (с 11,731 дальтона, что характерно для неизменного белка, до 11,117, который определяется у больных со СРНС). Данные о характеристиках белка на основании исследований протеомики представлены были и на 40-м Европейском конгрессе педиатров-нефрологов в Палермо (Италия, октябрь 2006). Можно полагать, что эти исследования дадут много нового в понимании развития НС.

Таким образом, в настоящее время стало очевидным, что развитие НС в большой мере зависит от структуры щелевой мембраны, ее белков и генов, их кодирующих. Не менее 7 вариантов генетически детерминированного НС уже описано, и имеются предположения на основании экспериментальных данных, что число подобных вариантов НС будет увеличиваться. Получены и первые результаты исследования аллелей гена нефрина, свидетельствующие о том, что имеются некоторые его особенности в случаях так называемого «приобретенного НС». Результаты в плане определения предрасположенности к прогрессированию НС дают исследования полиморфизмов рядов генов. В последние годы на помощь генетике пришла протеомика, изучающая структуру белков при различных патологических состояниях, в том числе нефрологических заболеваниях, динамику характеристик этих белков в процессе лечения и возможность предполагать нефротоксичность некоторых лекарственных веществ. Значительное увеличение числа исследований в области протеомики за последние 10 лет дает возможность в недалеком будущем использовать ее результаты в педиатрической нефрологии.

Литература

1. Игнатова М.С., Вельтищев Ю.Е. Детская нефрология: Руководство для врачей. Л.: Медицина, 1989: 455.
2. Кравцова Г.И., Савченко Н.Е., Плисан С.О. Врожденные дисплазии почек. Минск: Беларусь, 1982.
3. Шатохина О.В., Игнатова М.С., Османов И.М. и соавт. Клинический полиморфизм и генетическая характеристика синдрома Дениса-Драша и Фрайзера. Нефрология и диализ 2004; 6: 337–343.
4. Abola H., Heikkila E., Astrom E. et al. A novel protein, densin, expressed by glomerular podocytes. J Am Soc Nephrol 2003; 14: 1731–1737.

5. *Andrews P.M.* Investigations of cytoplasmic contractile and cytoskeletal elements in the kidney glomerulus. *Kidney Int* 1981; 20: 549–562.
6. *Antignac C.* Molecular basis of steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nefrologia* 2005; 25 (Suppl. 2): 25–28.
7. *Cameron S.* The nephrotic syndrome: management, complications and pathophysiology. Oxford text of clinical nephrology. 2ed. Eds. A. Davison, S. Cameron, J.-P. Grunfeld et al. Oxford, New-York: Oxford medical press, 1998: 461–492.
8. *Chib NY, Karpitskii V, Nguyen A.* et al. Congenital nephrotic syndrome in mice lacking CD2-associated protein. *Science* 1999; 286: 312–315.
9. *Cutillas P, Burlingame A, Unwin R.* Proteomic Strategies and Their Application in studies of Renal Function. *New Physiol Sci* 2004; 19: 114–119.
10. *Donoviel D, Freed D, Vogel H.* et al. Proteinuria and perinatal lethality in mice lacking NEPH1, a novel protein with homology to NEPHRIN. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 4829–4836.
11. *Drenckbahn D, Franke R.P.* Ultrastructural organization of contractile and cytoskeletal proteins in glomerular podocytes of chicken, rat and man. *Lab Invest* 1988; 59: 1023–1030.
12. *Fan Q, Xing Y, Ding J.* et al. The relationship among nephrin, podocin, CD2AP and alpha-actinin might not be a true 'interaction' in podocyte. *Kidney Int* 2006; 69: 1207–1215.
13. *Gerke P, Huber T.B, Sellin L.* et al. Homodimerization and Heterodimerization of the glomerular podocyte proteins Nephrin and NEPH 1. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 918–926.
14. *Gutler P, Bell D.J, Birrell H.C.* et al. An integrated proteomic approach to studying glomerular nephrotoxicity. *Electrophoresis* 1999; 20: 3647–3658.
15. *Hasselbacher K.* et al. Recessive missense mutations in LAMB2 expand the clinical spectrum of LAMB2-associated disorders. *Kidney Int* 2006; 70: 1008–1012.
16. *Heinrich M, Regele H.M, Filipovic E.* et al. Glomerular expression of dystroglycans is reduced in minimal change nephrosis but not in focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 403–412.
17. *Hinkes B, Wiggins R, Gbadegesin R.* et al. Positional cloning uncovers mutations in PLCE1 responsible for a nephrotic syndrome variant that may be reversible. *Natural Genetics* 2006; 38 (12): 1397–1405.
18. *Hirakawa M, Tsuruya K, Votsueda H.* et al. Expression of synaptopodin and GLEPP1 as markers of steroid responsiveness in primary focal segmental glomerulosclerosis. *Life Sci* 2006; 79: 757–763.
19. *Horinouchi I, Nakasato H, Kavano T.* et al. *In situ* evaluation of podocin in normal and glomerular diseases. *Kidney Int* 2003; 64: 2092–2099.
20. *Huber T.B, Simons M, Hartleben B.* et al. Molecular basis of the functional podocin-nephrin complex: mutation in the NPHS2 gene disrupt nephrin targeting to the lipid raft microdomains. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 3397–3405.
21. *Inoue T, Yaoita E, Karibara H.* et al. FAT is a component of glomerular slit diaphragms. *Kidney Int* 2001; 59: 1003–1012.
22. *Kaplan J.M, Kim S.H, North K.N.* et al. Mutation in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genetic* 2000; 24: 251–256.
23. *Kerjaszki D, Sharkey D, Farquhar M.G.* Identification and characterization of podocalyxin – the major sialoprotein of the renal glomerular epithelial cell. *J Cell Biol* 1984; 98: 1591–1596.
24. *Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M.* et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein – nephrin – is mutated in congenital nephritic syndrome. *Mol Cell* 1998; 1: 575–582.
25. *Kburana M, Trauma A, Alvado M.* et al. Urine proteomic profiling of pediatric nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2006; 21: 1257–1265.
26. *Kim S.-D, Park J.-M, Kim I.-S.* et al. Association of IL-1 β , IL-1 α and TNF- α polymorphisms in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 295–299.
27. *Knudsen K.A, Soler A.P, Johnson K.R.* et al. Interaction of alpha-actin with the kadherin/catenin cell-cell adhesion complex via alpha-catenin. *J Cell Biol* 1995; 131: 67–77.
28. *Koziell A, Grech V, Hussain S.* et al. Genotype/phenotype correlations of NPHS1 and NPHS2 mutations in nephrotic syndrome advocate a functional inter-relationship in glomerular filtration. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 379–388.
29. *Kumar V, Uppuluri N, Babu K.* et al. Proteomics of renal disorders: Urinary proteome analysis by two-dimensional gel electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry. *Current Science* 2002; 82 (6): 655–663.
30. *Marshall C.B, Pippin J.W, Kroffit R.D.* et al. Puromycin aminonucleoside induces oxidant-dependent DNA damage in podocytes *in vitro* and *in vivo*. *Kidney Int* 2006; 70: 1962–1973.
31. *Mundel P, Reiser J, Zuniga Mejia Borja A.* et al. Rearrangements of cytoskeleton and contacts induce process formation during differentiation of conditionally immortalized mouse podocyte cell lines. *Exp Cell Res* 1997; 236: 193–204.
32. *Norden A.G, Lapsley M, Lee P.J.* et al. Glomerular protein sieving and implications for renal failure in Fanconi syndrome. *Kidney Int* 2001; 60: 1885–1892.
33. *Patrakka J, Ruotsalainen V, Ketola I.* et al. Expression of nephrin in pediatric kidney diseases. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 289–296.
34. *Patrakka J, Ruotsalainen V, Reponen P.* et al. Recurrence of nephrotic syndrome in kidney grafts of patients with congenital nephrotic syndrome of the Finnish type: role of nephrin. *Transplantation* 2002; 73: 394–403.
35. *Prikhodina L, Zaklyazminskaya E, Poltavets N.* et al. Genetic markers for progression of steroid-resistant nephrotic syndrome in childhood. *Nephrology (Suppl.)* 2005; 10: A246.
36. *Prikhodina L, Zaklyazminskaya E, Poltavets N.* et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in progression of steroid-resistant nephrotic syndrome in children. *Ped Nephrol* 2005; 20 (9): 85.
37. *Radice G.L, Ferreira-Cornwell M.C, Robinson S.D.* et al. Precocious mammary gland development in P-cadherin deficient mice. *J Cell Biol* 1997; 139: 1025–1032.
38. *Roselli S, Gribouval O, Boute N.* et al. Podocin localizes in the kidney to the slit diaphragm area. *Am J Pathol* 2002; 160: 131–139.
39. *Ruf R.G, Lichtenberger A, Karle S.* et al. Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 722–732.
40. *Simons M.* Nephrologists sans frontiers: on the metamorphosis of turning into a fly geneticist. *Kidney Int* 2007; 70: 1387–1388.
41. *Thongboonkerd V.* Proteomics in Nephrology: Current Status and Future Directions. *Am J Nephrol* 2004; 24: 360–378.
42. *Tsubata Y, Sakatsume M, Ogawa A.* et al. Expression of allograft inflammatory factor-1 in the kidneys: A novel molecular component of podocyte. *Kidney Int* 2006; 70: 1948–1954.
43. *Vidal B, Bonventre J, J-Hong S.* Towards the application of proteomics in renal disease diagnosis. *Clinical Science* 2005; 109: 421–430.
44. *Winn M.P.* et al. A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science* 2005; 308: 1801–1804.