

Инфантильный нефротический синдром: клиничко-морфологическая характеристика, генетическая гетерогенность, исходы

Опыт одного центра

Л.С. Приходина^{1,2}, С.В. Папиж¹, Е.С. Столяревич^{3,4}, П.Е. Повилайтите⁵, П.А. Шаталов⁶

¹ Отдел наследственных и приобретенных болезней почек, "Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева", ГБОУ ВО "Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова" Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, 125412, ул. Талдомская, д. 2, Россия

² Кафедра педиатрии с курсом поликлинической педиатрии им. Г.Н. Сперанского, ФГБОУ ДПО РМАНПО Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, 125993, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр.1, Россия

³ Кафедра нефрологии факультета постдипломного образования, ФГБОУ ВО "Московский Государственный Медико-Стоматологический Университет им. А.И. Евдокимова" Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, 127473, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1, Россия

⁴ Отделение нефрологических проблем трансплантации почки, ФГБУ "Научный Медицинский Центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова" МЗ РФ, г. Москва, 123182, ул. Щукинская, д. 1, Россия

⁵ Государственное бюджетное учреждение Ростовской области "Патологоанатомическое бюро", г. Ростов-на-Дону, 344015, ул. Благодатная, д. 170а, Россия

⁶ Лаборатория патоморфологии и иммунологии, "Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева", ГБОУ ВО "Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова" Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, 125412, ул. Талдомская, д. 2, Россия

Infantile nephrotic syndrome: clinical and pathology features, genetic heterogeneity and outcome

A single-center study

L.S. Prikhodina^{1,2}, S.V. Papizh¹, E.S. Stolyarevich^{3,4}, P.E. Povilaitite⁵, P.A. Shatalov⁶

¹ Division of Inherited and Acquired Kidney Diseases, Y.E. Veltishev Research Clinical Institute for Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, 2 Taldomskaya Str., Moscow 125412, Russian Federation

² G.N. Speransky Department of Pediatrics with polyclinic pediatrics course, Russian Academy of Medical Continuous Postgraduate Education, 2/1 Barrikadnaya Str., bld.1, Moscow 123242, Russian Federation

³ Department of Nephrology, Faculty of Postgraduate Education, Moscow State Medical and Dental University, 1 Delegatskaya Str., Moscow 127473 Russian Federation

⁴ Department of Nephrological Problems of Kidney Transplantation, V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs, 1 Schukinskaya Str., Moscow 123182, Russian Federation

⁵ Rostov Region Pathology Bureau, 170a, Blagodatnaya Str., Rostov-on-Don, Russian Federation

⁶ Laboratory of Pathomorphology and Immunology, Y.E. Veltishev Research Clinical Institute for Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, 2 Taldomskaya Str., Moscow 125412, Russian Federation

Адрес для переписки: Лариса Серафимовна Приходина
e-mail: prikhodina@rambler.ru

Corresponding author: Larisa S. Prikhodina
e-mail: prikhodina@rambler.ru

Ключевые слова: инфантильный нефротический синдром, дети, гены, мутации, исход

Резюме

Инфантильный нефротический синдром (НС) – редкая генетически гетерогенная группа гломерулопатий с манифестацией заболеваний в возрасте 4-12 месяцев.

Цель: изучить клиничко-морфологические характеристики, генетический профиль и почечный исход у детей с инфантильным НС.

Материалы и методы: проведен ретроспективный анализ историй болезни 8 детей (4 девочек и 4 мальчиков) в возрасте 3,2 (3,0; 6,1) лет с инфантильным НС. Всем пациентам проведен молекулярно-генетический анализ методом секвенирования следующего поколения – клиническое секвенирование экзома с исследованием мутаций в 68 генах, ассоциированных со стероид-резистентным НС с последующей валидацией выявленных мутаций прямым секвенированием по Сэнгеру.

Результаты: фокально-сегментарный гломерулосклероз выявлен у 7/7 (100%) детей с инфантильным НС. Экстраренальные проявления отмечены у 3/8 (37,5%) пациентов. Моногенные причины инфантильного НС идентифицированы у 4/8 (50%) детей. Мутации были выявлены в 4/68 (5,9%) генах, включая гены *NPHS2*, *NPHS1*, *WT1* и *ITGB4*. Сохранные функции почек на момент последнего наблюдения имели только 2/8 (25%) детей с инфантильным НС.

Заключение: применение молекулярно-генетического исследования методами секвенирования следующего поколения у детей с инфантильным НС расширяет диагностические возможности с последующей персонализацией терапевтических подходов.

Abstract

Infantile nephrotic syndrome (NS) is a rare, genetically heterogeneous group of glomerulopathies with the onset of the disease at the age of 4-12 months.

Aim: to study of clinical and pathological characteristics, genetic features and outcome in children with infantile NS.

Materials and methods: we conducted a retrospective one-center follow up study of 8 children (4M/4F) aged 3.2 (IQR: 3.0; 6.1) years with infantile NS. Targeted next-generation sequencing covering 68 genes associated with steroid-resistant NS with confirmation by direct Sanger sequencing were applied.

Results: renal biopsy revealed focal-segmental glomerulosclerosis (FSGS) in 7/7 (100%) of the affected children. Monogenic causes of infantile NS were identified in 4/8 (50%) of children. Mutations were found in 4/68 (5.9%) genes, including *NPHS2*, *NPHS1*, *WT1* and *ITGB4*. Normal renal functions on the last follow up had 2/8 (25%) children with infantile NS.

Conclusion: genetic analyses of infantile NS with next-generation sequencing technique expands diagnostic possibilities with the subsequent personalization of therapeutic approaches.

Key words: infantile nephrotic syndrome, children, genes, mutations, outcome

Введение

Инфантильный нефротический синдром (НС) представляет генетически-гетерогенную группу гломерулопатий, манифестирующих в возрасте от 4 до 12 месяцев, протекающих с развитием тяжелых инфекционных и тромбоемболических осложнений и прогрессирующих в хроническую болезнь почек (ХБП) 3-5 стадий в детском возрасте.

Инфантильный НС является редкой патологией почек, в связи с чем до настоящего времени отсутствуют эпидемиологические данные о заболеваемости и распространенности в детской популяции. В медицинской базе данных PubMed, начиная с 1960 года, опубликовано всего 172 статьи по проблемам инфантильного НС [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=infantile+nephrotic+syndrome>]. В многоцентровом европейском исследовании консорциума PodoNet инфантильный НС отмечался

у 7% (140/2000) детей и подростков со стероид-резистентным НС (СРНС) [1]. По данным Büscher A.K. et al. (2016) инфантильный НС наблюдался у 12% (16/231) детей со СРНС [2].

У детей с инфантильным НС, как и с врожденным НС, при морфологическом исследовании почечной ткани наиболее часто выявляются микрокистозные изменения канальцев и гломерул, характерные для НС финского типа, а также диффузный мезангиальный склероз или фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС) [3, 4, 5, 6]. Выполнение нефробиопсии у детей раннего возраста с НС нередко может быть технически затруднительно в связи с выраженным отеком и риском развития потенциальных осложнений.

В последние годы с развитием молекулярно-генетических методов диагностики клиническое значение нефробиопсии для прогноза и ведения детей с инфантильным НС пересматривается. Недавние

исследования с применением секвенирования следующего поколения позволили идентифицировать высокую частоту патогенных мутаций в генах, ответственных за развитие инфантильного НС у детей [2, 7].

Иммуносупрессивная терапия не эффективна у большинства детей с врожденным и инфантильным НС [7]. Почечный исход при инфантильном НС остается неблагоприятным с развитием ХБП 3-5 стадий в детском возрасте в большинстве случаев.

Современные знания о генетических причинах развития инфантильного НС способствуют оптимальному ведению пациентов с исключением необоснованного применения иммуносупрессивной терапии и расширением потенциально перспективных терапевтических подходов в будущем. В нашей стране до настоящего времени не проводилось исследований клинко-морфологических характеристик и генетической гетерогенности инфантильного НС у детей.

Целью представленного исследования явилось изучение клинко-морфологической характеристики, генетических особенностей и почечных исходов у детей с инфантильным НС.

Материалы и методы исследования

Проведен ретроспективный анализ историй болезни 8 детей (4 девочек и 4 мальчиков) с инфантильным НС, которые наблюдались в отделе наследственных и приобретенных болезней почек НИКИ педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова за период с 2013 по 2018 годы.

НС у детей диагностирован при выявлении протеинурии более 40 мг/м²/час, гипоальбуминемии менее 25 г/л и отеков [8]. Состояние функций почек у пациентов с инфантильным НС определялось по формуле Шварца с расчетом скорости клубочковой фильтрации (рСКФ) [9]. Прогрессирующее течение заболевания у детей определялось при снижении рСКФ <60 мл/мин/1,73 м² в течение 3-х и более месяцев в соответствии с классификацией Американского национального Фонда изучения патологии почек [10].

Пункционная нефробиопсия с последующим морфологическим исследованием почечной ткани с применением световой и электронной микроскопии, а также иммунофлюоресценции была выполнена у 7/8 детей с инфантильным НС.

Всем пациентам проведен молекулярно-генетический анализ методом секвенирования следующего поколения – клинко-секвенирование экзона с фильтром для известных 68 генов, ассоциированных со СРНС. Данный метод высокопроизводительного секвенирования образцов ДНК выполнялся с помощью секвенатора Illumina HiSeq2500

(Illumina Inc., San Diego; CA) с совокупным размером целевой области секвенирования не менее 12 млн. п. о., с полнотой секвенирования целевой области с покрытием, гарантирующим точность прочтения нуклеотидов не менее 90%. Всем пациентам проведена валидация идентифицированных мутаций с применением прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру.

Биоинформатический анализ выполнялся с применением ряда баз данных, включая MutationTaster [11] (<http://www.mutationtaster.org/>), PolyPhen-2 [12] (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/>), SIFT [13] (<http://sift.jcvi.org/>), HGMD [14] (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/>), ClinVar [15] (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), GWAS (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>), dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>), ESP6500 (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>), 1000genomes (<http://www.1000genomes.org/>), CNVkit [17] (<http://cnvkit.readthedocs.io/>), OMIM (<https://omim.org/>). Контроль качества данных высокопроизводительного секвенирования производился с использованием программы FastQC [18, 19] (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>).

Определение потенциальной патогенности выявленных мутаций производилось в соответствии с рекомендациями Американского колледжа медицинской генетики и геномики и Ассоциации молекулярной патологии (2015) на основании комбинации сведений литературы, расчетных, функциональных и популяционных данных [20].

При идентификации некомпонданных гетерозиготных мутаций в генах, ассоциированных с инфантильным НС с аутосомно-рецессивным (АР) типом наследования, данные мутации не рассматривались причинно-значимыми для развития заболевания.

Статистическая обработка результатов исследования

Оценка распределения изучаемых параметров проводилась графическим методом с применением критериев нормальности Колмогорова-Смирнова. Статистическая значимость значений с распределением, отличным от нормального, оценивалась с использованием непараметрических методов и выражалась в виде медианы (Me) с оценкой разброса величин по отношению к медиане по показателю интерквартильного размаха (ИКР) (25-й; 75-й перцентили). Статистическая обработка полученных данных проведена по общепринятым методикам вариационной статистики с использованием программы GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, США).

Результаты исследования

Мутационный анализ

Клиническая характеристика пациентов

Проведено ретроспективное продольное исследование 8 (4 м/4 д) детей с инфантильным НС, медиана возраста которых составила 3,2 (ИКР: 3,0; 6,1) лет на момент включения (Табл. 1). Манифестация инфантильного НС отмечалась у детей в возрасте 10,5 (4,8; 11,0) месяцев. Длительность заболевания на момент последней госпитализации составляла 48,0 (30,0; 66,0) месяцев. Продолжительность катамнестического наблюдения за пациентами продолжалась в течение 36,0 (24,0; 53,4) месяцев.

Морфологическое исследование почечной ткани выполнено у 7/8 (87,5%) детей с инфантильным НС. При световой микроскопии нефробиоптата ФСГС выявлен у 7/7 (100%) пациентов (Рис. 1). Иммунофлюоресценция с IgG, IgM, IgA, C3, C1q и фибриногеном негативна у всех пациентов. При электронной микроскопии почечной ткани тотальное распластывание малых отростков подоцитов выявлено у всех пациентов с инфантильным НС.

Экстраренальные проявления отмечены у 3/8 (37,5%) детей с инфантильным НС, в том числе микроцефалия, диффузная атрофия головного мозга, врожденная нейросенсорная тугоухость и задержка психомоторного развития ($n=1$), нефробластома с последующей левосторонней нефрэктомией ($n=2$), врожденный порок сердца (аневризма межпредсердной перегородки) у одного из них.

Генетические причины инфантильного НС идентифицированы у 4/8 (50%) детей. Патогенные и вероятно патогенные мутации были выявлены в следующих генах: *NPHS2* ($n=2$), *NPHS1* и *ITGB4* ($n=1$), *WT1* ($n=1$) (Табл. 2).

Мутации выявлены в 4/68 (5,9%) генах, ассоциированных со СРНС у детей. АР тип наследования заболевания был установлен у 2-х пациентов с гомозиготными мутациями в гене *NPHS2*. Аутомно-доминантный (АД) тип наследования инфантильного НС отмечался у 1 ребенка с гетерозиготной мутацией в гене *WT1*. Дигенное наследование выявлено у 1 ребенка с инфантильным НС с ФСГС, экстраренальными проявлениями и компаунд-гетерозиготными мутациями в генах *NPHS1* и *ITGB4*.

Электрофореграммы валидированных мутаций в генах, ассоциированных со СРНС, идентифицированных у детей с инфантильным НС с применением прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру представлены на Рисунке 2.

Гетерозиготные мутации в гене *WT1* идентифицированы у 1 из 2 детей с инфантильным НС и нефробластомой. У одной девочки с инфантильным НС с ФСГС без экстраренальных проявлений не выявлено мутаций в исследуемых генах.

Терапия

Всем детям с выраженной активностью инфантильного НС с гипоальбуминемией менее 20 г/л и отеком синдромом проводилась симптоматиче-

Таблица 1 | Table 1

Клинические характеристики у детей с инфантильным НС ($n = 8$)Clinical characteristics of children with infantile NS ($n = 8$)

№ пациента	Пол	Возраст манифестации заболевания (мес)	Экстраренальная патология	Морфологический диагноз	Возраст при последнем наблюдении (годы)	иАПФ (мг/кг/с)	Протеинурия при последнем наблюдении (г/л)	рСКФ при последнем наблюдении (мл/мин/1,73 м ²)
1.	М	1	-	ФСГС	7,5	0,17	2,8	тХПН, Тх
2.	М	3	-	ФСГС	6,0	0,12	2,9	тХПН, ПД
3.	Ж	10	Микроцефалия, диффузная атрофия головного мозга, глухота, задержка психомоторного развития	МПГН, тип 1	3,5	0,21	4,0	тХПН, ПД
4.	М	11	Опухоль Вильмса, врожденный порок сердца	-	5,0	0,33	0,1	75
5.	Ж	12	-	ФСГС	2,5	0,1	14,4	Летальный исход
6.	Ж	3	-	ФСГС	3,4	0,3	2,9	68
7.	М	11	Опухоль Вильмса	ФСГС	3,3	0,18	0,4	97
8.	Ж	11	-	ФСГС	3,1	0,31	0,36	127

Тх – трансплантация почки; ПД – перитонеальный диализ

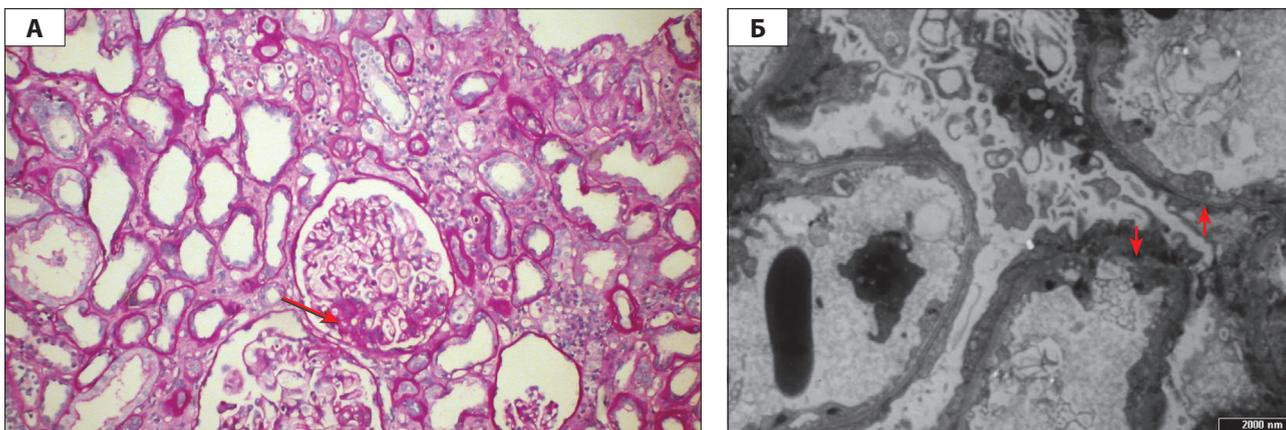


Рис. 1. А – ФСГС у ребенка с инфантильным НС, ассоциированным с гомозиготной мутацией в гене *NPHS2*. Световая микроскопия. Сегментарный склероз в 1-м клубочке (окраска PAS $\times 100$).

Б – ФСГС у ребенка с инфантильным НС. Электронная микроскопия. Тотальное распластывание малых отростков подоцитов.

Fig. 1. A – FSGS in a child with an infantile NS associated with homozygous mutation in the *NPHS2* gene. Light microscopy. Segmental sclerosis in 1 glomerulus (PAS $\times 100$).

B – FSGS in a child with an infantile NS. Electron microscopy. Diffuse podocyte foot process effacement.

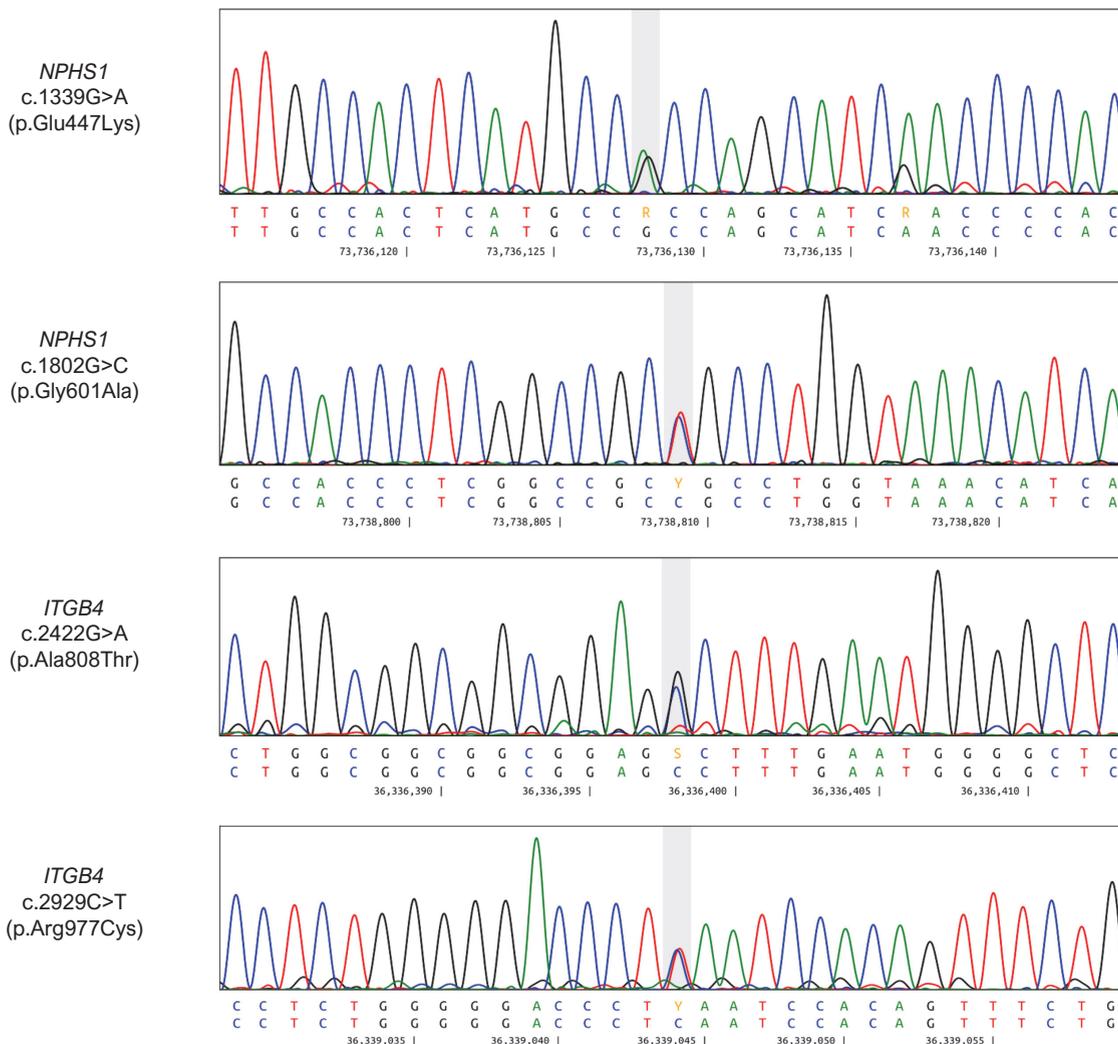


Рис. 2. Электрофореграммы мутаций, валидированных методом прямого секвенирования по Сэнгеру у ребенка с инфантильным НС и ФСГС.

Fig. 2. Electrophoregrams of mutations validated by direct sequencing by Sanger in a child with infantile NS and FSGS.

Таблица 2 | Table 2

Данные молекулярно-генетического исследования у детей с инфантильным НС (n = 7)
The data of molecular genetic studies in children with infantile NS (n = 7)

№ пациента	Хромосома	Ген	Протеин (локализация)	Мутации (ДНК, протеин), * – новая	Экзон	Генотип	Патогенность	Фенотип (ММ)	Тип наследования
1.	1	<i>NPHS2</i>	Пододцин (щелевая диафрагма)	c.259G>T (p.Glu87*)	1	Гомозигота	Патогенная	НС, тип 2 (# 600995)	АР
2.	1	<i>NPHS2</i>	Пододцин (щелевая диафрагма)	c.259G>T (p.Glu87*)	1	Гомозигота	Патогенная	НС, тип 2 (# 600995)	АР
3.	19	<i>NPHS1</i>	Нефрин (щелевая диафрагма)	c.1339G>A (p.Glu447Lys)	11	Компаунд-гетерозигота	Патогенная	НС, тип 1 (# 256300)	АР
	19			c.1802G>C (p.Gly601Ala)	14		Вероятно патогенная		
	17	<i>ITGB4</i>	Интегрин β4 (ГБМ)	c.2422G>A (p.Ala808Thr)	20	Компаунд-гетерозигота	Вероятно патогенная	-	АР
	17			c.2929C>T (p.Arg977Cys)	25		Вероятно патогенная		
	19	<i>ACTN4</i>	α-актинин 4 (цитоскелет подоцитов)	c.929G>A (p.Arg310Gln)	10	Гетерозигота	Вероятно патогенная	ФСГС, тип 1 (# 603278)	АД
4.	11	<i>WT1</i>	Опухоли Вильмса 1 (ядерный протеин, фактор транскрипции)	c.1378T>G (p.Phe460Val)*	9	Гетерозигота	Вероятно патогенная	НС, тип 4 (# 256370)	АД
	17	<i>ITGB4</i>	Интегрин β4 (ГБМ)	c.13C>T (p.Arg5Cys)*	2	Гетерозигота	Вероятно патогенная	-	АР
5.	4	<i>COQ2</i>	Коэнзим Q2 (митохондрии)	c.1039A>T (p.Ser347Cys)	6	Гетерозигота	Вероятно патогенная	Первичный дефицит коэнзима Q10 (# 607426)	АР
6.	12	<i>PTPRO</i>	Протеин-тирозин фосфатаза-R O (цитоскелет подоцитов)	c.151A>G (p.Ser51Gly)*	2	Гетерозигота	Вероятно патогенная	НС, тип 6 (# 614196)	АР
	4	<i>SCARB2</i>	Поглотитель рецептора класса В, член 2 (лизосомы)	c.515C>T (p.Thr172Ile)*	4	Гетерозигота	Вероятно патогенная	Эпилепсия, миоклонус с/без ХПН (# 254900)	АР
7.	10	<i>ZEB1</i>	Фактор транскрипции цинкового пальца	c.2522A>C (p.Gln841Pro)	7	Гетерозигота	Вероятно патогенная	-	-

АД – аутосомно-доминантный, АР – аутосомно-рецессивный

ская терапия, включая в/в инфузии 20% раствора альбумина, диуретики (фуросемид, верошпирон), п/к введение низкомолекулярных гепаринов с целью профилактики тромбозов.

2/8 (25%) детей с инфантильным НС получали иммуносупрессивную терапию циклоспорином А с отсутствием эффекта у обоих пациентов: с гомозиготной мутацией в гене *NPHS2* (n=1) и без выявленных мутаций (n=1).

Все дети с инфантильным НС получали с антипротеинурической и гипотензивной целью ингибитор ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) – эналаприл в дозе 0,2 (0,13; 0,33) мг/кг в сутки.

Почечные исходы

Сохранные функции почек с рСКФ >90 мл/мин/1,73 м² на момент последнего наблюдения отмечены только у 2/8 (25%) детей с инфантильным НС без выявленных мутаций. Снижение рСКФ до 2-й стадии ХБП отмечено у 2/8 (25%) пациентов. У 3/8 (37,5%) детей с инфантильным НС с гомозиготными мутациями в генах *NPHS1* (n=1) и *NPHS2* (n=2) заболевание прогрессировало до 5-й стадии ХБП в возрасте 3,6, 5 и 6 лет, соответственно. У одного ребенка с инфантильным НС, ассоциированным с гомозиготной мутацией в гене *NPHS2* выполнена родственная трансплантация почки. Возврата забо-

левания в трансплантат не наблюдалось в течение 14 месяцев посттрансплантационного наблюдения.

Обсуждение результатов

В представленном исследовании инфантильного НС у детей преобладающим морфологическим вариантом являлся ФСГС, который отмечался у всех пациентов. По данным Büscher A.K. et al. (2016), диффузный мезангиальный склероз наблюдался у 40% детей с врожденным НС, в то время как ФСГС только у 21% пациентов [2]. Такие различия в структуре морфологических вариантов могут быть связаны с исследованием различных типов НС: инфантильного и врожденного.

По результатам представленного исследования, экстраренальные проявления выявлены у 37,5% пациентов с инфантильным НС. Сходные результаты получены в исследовании Cil O. et al. (2015), в котором экстраренальная патология наблюдалась у 41% пациентов с врожденным и инфантильным НС с превалированием врожденных пороков сердца и дизгенезии гонад в виде мужского гермафродитизма, характерной для синдромов Дениса-Драш и Фрейзера [21].

Полученные результаты исследования свидетельствуют о высокой частоте мутаций, идентифицированных у 50% детей с инфантильным НС. Аналогичные результаты были получены в исследовании Büscher A.K. et al. (2016), в котором моногенные причины инфантильного НС установлены у 73% пациентов [2]. У пациентов с врожденным НС частота идентифицированных мутаций была выше по сравнению с пациентами с инфантильным НС и варьировала в пределах 66-97% [6, 22].

По данным Cil O. et al. (2015), частота выявленных мутаций у детей с врожденным НС была в 2 раза выше, чем у детей с инфантильным НС и составляла 72,5% и 36,2%, соответственно [21]. У детей с врожденным НС, как и в нашем исследовании, наиболее часто патогенные мутации выявлялись в генах *NPHS2*, *NPHS1* и *WTT1* [1, 2, 23, 24]. В настоящее время обсуждается целесообразность проведения молекулярно-генетического исследования панели 3-х генов *NPHS2*, *NPHS1* и *WTT1* в качестве стартового генетического теста у детей с врожденным и инфантильным НС. А применение секвенирования следующего поколения рассматривается в качестве 2-го этапа молекулярно-генетического исследования у детей без выявленных мутаций в панели из 3-х вышеуказанных генов.

В настоящее время обсуждается информативная ценность и прогностическая значимость гистологического исследования почечной ткани у детей с врожденным и инфантильным НС. Мы предлагаем принимать решение о целесообразности проведения нефробиопсии у детей с врожденным и инфантильным НС только после молекулярно-генетического

исследования, что позволяет дифференцировать наследственный и идиопатический генез заболевания.

Иммуносупрессивная терапия циклоспорином А может быть эффективна лишь у отдельных детей с генетически-ассоциированным СРНС. По данным Büscher A.K. et al. (2016), полная и частичная ремиссия генетически-ассоциированного СРНС отмечалась только у 3% и 16% пациентов, соответственно [2]. Частичная ремиссия, индуцированная циклоспорином А, была описана у нескольких пациентов со СРНС с мутациями в генах *NPHS2* и *WTT1* [25, 26]. Воздействие циклоспорина А на цитоскелет подоцитов может являться одним из аспектов антипротеинурического эффекта препарата при генетически-ассоциированным СРНС [27].

В исследовании Kari J.A. et al. (2014) ни у одного ребенка с врожденным или инфантильным НС, ассоциированным с генетическими мутациями, не наблюдалось ответа на терапию циклоспорином А [7]. Данный факт подтверждает, что у большинства пациентов с генетически-ассоциированным НС, в первую очередь с врожденным и инфантильным НС, нецелесообразно назначение иммуносупрессивной терапии, что может сопровождаться потенциальным нефротоксическим эффектом и способствовать быстрому прогрессированию в ХПН.

Внедрение в клиническую практику методов молекулярно-генетической диагностики с применением секвенирования следующего поколения позволит расширить терапевтические подходы у детей с генетически-ассоциированным НС. По данным Starr M.C. et al. (2018) терапия Коэнзимом Q10 способствовала индукции ремиссии СРНС, ассоциированного с мутациями в гене *COQ2* у 2 из 3 детей с последующим сохранением функций почек [28].

Всем детям с врожденным и инфантильным НС с антипротеинурической целью показано назначение ингибиторов АПФ. По данным Dufek S. et al. (2018) and Bérody S. et al. (2018) терапия ингибиторами АПФ способствовала увеличению уровня альбумина в крови с последующим снижением потребности в инфузиях 20% раствора альбумина у 67% детей с врожденным НС, ассоциированным с *NPHS1* мутациями и у 73% пациентов без выявленных мутаций [24; 29].

Почечный прогноз у пациентов с врожденным и инфантильным НС остается неблагоприятным. По данным проведенного исследования, у 75% детей с инфантильным НС уже в дошкольном возрасте выявлено снижение функций почек, включая 3-х пациентов с ХБП 5 стадии, получающих заместительную почечную терапию. Кроме того, у детей с врожденным и инфантильным НС наблюдается высокая частота осложнений, связанных с инфекционными заболеваниями (71%) и тромбозами (29%) [29]. У большинства пациентов с врожденным и инфантильным НС не наблюдается возврата заболевания после трансплантации почки [29]. Редко отмеча-

ется возврат НС у детей с мутациями в гене *NPHS1* вследствие образования антител к нефрину [30].

Представленное исследование имеет ряд ограничений, связанных, в первую очередь, с небольшим количеством пациентов с инфантильным НС и ретроспективным анализом данных. Вышеуказанные ограничения связаны с редкой встречаемостью изучаемой патологии почек. Однако данное исследование имеет и ряд преимуществ, связанных с одноцентровым обследованием всех пациентов с использованием лабораторных, инструментальных и морфологических методов исследования, проведенных едиными методами. Применение современных молекулярно-генетических методов исследования с использованием секвенирования следующего поколения может рассматриваться в качестве дополнительного преимущества проведенного анализа.

Заключение

Установлена высокая частота идентифицированных мутаций, ассоциированных со СРНС, с превалированием мутаций в генах *NPHS2*, *NPHS1* и *WT1*, что подтверждает моногенный генез инфантильного НС у 50% детей исследуемой выборки.

Полученные результаты проведенного исследования свидетельствуют о необходимости внедрения молекулярно-генетической диагностики методами секвенирования следующего поколения в клиническую практику, что позволит избежать нефробиопсии и обоснованно не назначать иммуносупрессивную терапию у детей с инфантильным НС, а также прогнозировать темпы снижения функций почек и риск возврата заболевания после трансплантации почки.

Авторы не имеют конфликта интересов

The authors declare no conflict of interests

Работа проведена в рамках Государственного Задания МЗ РФ № гос. регистрации АААА-А18-118051790107-2.

Список литературы

1. Trautmann A., Bodria M., Ozaltin F., Gheisari A., Melk A., Azocar M., Anarat A., Caliskan S., Emma F., Gellermann J., Ob J., Baskin E., Ksiazek J., Remuzzi G., Erdogan O., Akman S., Dusek J., Davitaia T., Ozkaya O., Papachristou F., Firszt-Adamezyk A., Urasinski T., Testa S., Krmar R.T., Hyla-Klekot L., Pasini A., Ozcakar Z.B., Sallay P., Cakar N., Galanti M., Terzic J., Aoun B., Caldas A.A., Szymanik-Grzelak H., Lipska B.S., Schnaidt S., Schaefer F., PodoNet Consortium. Spectrum of steroid-resistant and congenital nephrotic syndrome. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2015; 7; 10(4): 592-600. DOI: 10.2215/CJN.06260614
2. Büscher A.K., Beck B.B., Melk A., Hoefele J., Kranz B., Bamborschke D., Baig S., Lange-Sperandio B., Jungraithmayr T.,

Weber L.T., Kemper M. J., Tönshoff B., Hoyer P.F., Konrad M., Weber S. Rapid response to Cyclosporin A and favorable renal outcome in nongenetic versus genetic steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2016; 11(2): 245-253. DOI: 10.2215/CJN.07370715

3. Patrakka J., Kestila M., Wartiovaara J., Ruotsalainen V., Tissari P., Lenkkeri U., Mannikko M., Visapaa I., Holmberg C., Rapola J., Tryggvason K., Jalanko H. Congenital nephrotic syndrome (NPHS1): features resulting from different mutations in Finnish patients. *Kidney Int.* 2000; 58(3): 972-980. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2000.00254.x

4. Ozen S., Tinaztepe K. Diffuse mesangial sclerosis: a unique type of congenital and infantile nephrotic syndrome. *Nephron.* 1996; 72(2): 288-291. DOI: 10.1159/000188856

5. Kaneko K., Suzuki Y., Kiya K., Matsubara T., Fukuda Y., Yabuta K. Minimal change lesion in congenital nephrotic syndrome. Two case reports and a review of the literature. *Nephron.* 1998; 79(3): 379-380. DOI: 10.1159/000045079

6. Machuca E., Benoit G., Nevo F., Tete M.J., Gribouval O., Pawlowski A., Brandstrom P., Loirat C., Niaudet P., Gubler M.C., Antignac C. Genotype-phenotype correlations in non-Finnish congenital nephrotic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010; 21(7): 1209-1217. DOI: 10.1681/ASN.2009121309

7. Kari J.A., Montini G., Bockenbauer D., Brennan E., Rees L., Trompeter R.S., Tullus K., Van't Hoff W., Waters A., Ashton E., Lench N., Sebire N.J., Marks S.D. *Pediatr. Nephrol.* 2014; (11): 2173-2180. DOI: 10.1007/s00467-014-2856-x.

8. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Glomerulonephritis Work Group (2012) KDIGO Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2012; Suppl 2: 139-274. DOI: 10.1038/kisup.2012.9.

9. Schwartz G.J., Work D.F. Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 4(11): 1832-643. DOI: 10.2215/CJN.01640309

10. National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease Evaluation Classification Stratification. *Am. J. Kidney Dis.* 2002; 39(2 Suppl 1): 1-266.

11. Schwarz J.M., Cooper D.N., Schuelke M., Seelow D. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat. Methods* 2014; 11(4): 361-362. DOI: 10.1038/nmeth.2890.

12. Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L., Ramensky V.E., Gerasimova A., Bork P., Kondrashov A.S., Sunyaev S.R. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat. Methods* 2010; 7(4): 248-249. DOI: 10.1038/nmeth0410-248

13. Ng P.C., Henikoff S. Predicting deleterious amino acid substitutions. *Genome Res.* 2001; 11(5): 863-874. DOI:10.1101/gr.176601

14. Stenson P.D., Ball E.V., Mort M., Phillips A.D., Shiel J.A., Thomas N.S.T., Abeyasinghe S., Kravczak M., Coope D.N. Human Gene Mutation Database (HGMD®): 2003 update. *Hum. Mutat.* 2003; 21(6): 577-581. DOI: 10.1002/humu.10212

15. Landrum M.J., Lee J.M., Benson M., Brown G., Chao C., Chitipiralla S., Gu B., Hart J., Hoffman D., Hoover J., Jang W., Katz K., Ovetsky M., Riley G., Sethi A., Tully R., Villamarin-Salomon R., Rubinstein W., Maglott D.R. ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants. *Nucleic Acids Res.* 2016; 44(1): 862-868. DOI: 10.1093/nar/gkv1222

16. 1000 Genomes Project Consortium, Auton A., Brooks L.D., Durbin R.M., Garrison E.P., Kang H.M., Korbel J.O., Marchini J.L., McCarthy S., McVean G.A., Abecasis G.R. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015; 526(7571): 68-74. DOI: 10.1038/nature15393
17. Talerich E., Shain A.H., Botton T., Bastian B.C. CNVkit: Genome-Wide Copy Number Detection and Visualization from Targeted DNA Sequencing. *PLoS Comput. Biol.* 2016; 21; 12(4):e1004873. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1004873. eCollection 2016.
18. Van der Auwera G.A., Carneiro M.O., Hartl C., Poplin R., Del Angel G., Levy-Moonshine A., Jordan T., Shaker K., Roazen D., Thibault J., Banks E., Garimella K.V., Altshuler D., Gabriel S., DePristo M.A. From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Curr. Protoc. Bioinformatics*. 2013; 43: 11.10.1-33. DOI: 10.1002/0471250953.bi1110s43
19. Mark A DePristo, Eric Banks, Ryan Poplin, Kiran V Garimella, Jared R Maguire, Christopher Hartl, Anthony A Philippakis, Guillermo del Angel, Manuel A Rivas, Matt Hanna, Aaron McKenna, Tim J Fennell, Andrew M Kernysky, Andrey Y Sivachenko, Kristian Cibulskis, Stacey B Gabriel, David Altshuler, Mark J Daly. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nature Genetics* 2011; 43: 491-498. DOI: 10.1038/ng.806
20. Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., Grody W.W., Hegde M., Lyon E., Spector E., Voelkerding K., Rehm H.L.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* 2015; 17(5): 405-24. DOI: 10.1038/gim.2015.30
21. Cil O., Besbas N., Duzova A., Topaloglu R., Pecovic A., Korkmaz E., Ozaltin F. Genetic abnormalities and prognosis in patients with congenital and infantile nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 2015; 30(8): 1279-1287. DOI: 10.1007/s00467-015-3058-x.
22. Trautmann A., Lipska-Zietkiewicz B.S., Schaefer F. Exploring the Clinical and Genetic Spectrum of Steroid Resistant Nephrotic Syndrome: The PodoNet Registry. *Front. Pediatr.* 2018; 17 July; DOI: 10.3389/fped.2018.00200. eCollection 2018.
23. Santin S., Bullich G., Tazon-Vega B., Garcia-Maset R., Gimenez I., Silva I., Ruiz P., Ballarín J., Torra R., Ars E. Clinical utility of genetic testing in children and adults with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2011; 6(5): 1139-1148. DOI: 10.2215/CJN.05260610
24. Dufek S., Ylinen E., Trautmann A., Alpay H., Ariceta G., Aufriecht C., Bacchetta J., Bakkaloglu S., Bayazit A., Caliskan S., do Sameiro Faria M., Dursun I., Ekim M., Jankauskiene A., Klaus G., Paglialonga F., Pasini A., Printza N., Conti V.S., Schmitt C.P., Stefanidis C., Verrina E., Vidal E., Webb H., Zampetoglou A., Edefonti A., Holtta T., Shroff R., ESPN Dialysis Working Group. Management of children with congenital nephrotic syndrome: challenging treatment paradigms. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2018; Jun 21: 1-9. DOI: 10.1093/ndt/gfy165. [Epub ahead of print]
25. Gellermann J., Stefanidis C.J., Mitsioni A., Querfeld U. Successful treatment of steroid-resistant nephrotic syndrome associated with WT1 mutations. *Pediatr. Nephrol.* 2010; 25(7): 1285-1289. DOI: 10.1007/s00467-010-1468-3
26. Malina M., Cinek O., Janda J., Seeman T. Partial remission with cyclosporine A in a patient with nephrotic syndrome due to NPHS2 mutation. *Pediatr. Nephrol.* 2009; 24(10): 2051-2053. DOI: 10.1007/s00467-009-1211-0
27. Faul C., Donnelly M., Merscher-Gomez S., Chang Y.H., Franz S., Delfgaauw J., Chang J.M., Choi H.Y., Campbell K.N., Kim K., Reiser J., Mundel P. The actin cytoskeleton of kidney podocytes is a direct target of the antiproteinuric effect of cyclosporine A. *Nat. Med.* 2008; 14(9): 931-938. DOI: 10.1038/nm.1857
28. Starr M.C., Chang I.J., Finn L.S., Sun A., Larson A.A., Goebel J., Hanevold C., Thies J., Van Hove J.L.K., Hingorani S.R., Lam C. COQ2 nephropathy: a treatable cause of nephrotic syndrome in children. *Pediatr. Nephrol.* 2018; 33(7): 1257-1261. DOI: 10.1007/s00467-018-3937-z
29. Bérody S., Heidet L., Gribouval O., Harambat J., Niaudet P., Baudouin V., Bacchetta J., Boudailliez B., Debennault M., de Parscau L., Dunand O., Flodrops H., Fila M., Garnier A., Louillet F., Macher M.A., May A., Merieau E., Monceaux F., Pietrement C., Rousset-Rouvière C., Roussey G., Taque S., Tenenbaum J., Ulinski T., Vieux R., Zaloszyk A., Morinière V., Salomon R., Boyer O. Treatment and outcome of congenital nephrotic syndrome. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2018; Feb 20. DOI: 10.1093/ndt/gfy015. [Epub ahead of print]
30. Kuusniemi A-M., Qvist E., Sun Y., Patrakka J., Rönholm K., Karikoski R., Jalanko H. Plasma exchange and retransplantation in recurrent nephrosis of patients with congenital nephrotic syndrome of the Finnish type. *Transplantation.* 2007; 83(10):1316-1323.

Дата получения статьи: 25.02.2019

Дата принятия к печати: 02.05.2019

Submitted: 25.02.2019

Accepted: 02.05.2019