

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

заведующего кафедрой педиатрии и неонатологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора Летинова Гаджи Муталибовича на диссертацию Зайковой Натальи Михайловны на тему «Закономерности формирования и прогнозирование течения рефлюкс-нефропатии у детей в обосновании ранней ренопротективной терапии (клинико-экспериментальное исследование)», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.08 — Педиатрия

Актуальность диссертационного исследования

Диссертационная работа Зайковой Натальи Михайловны на тему «Закономерности формирования и прогнозирование течения рефлюкс-нефропатии у детей в обосновании ранней ренопротективной терапии (клинико-экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.08 — «Педиатрия», посвящена актуальной проблеме в педиатрии и нефрологии - усовершенствование диагностики, прогнозирования прогрессирующего течения рефлюкс-нефропатии и оптимизации нефропротективной терапии у детей

В разной степени выраженные пузырно-мочеточниковый рефлюкс (ПМР) и рецидивирующая инфекция мочевой системы (ИМС) становятся ведущими предикторами развития рефлюкс-нефропатии (РН) и нефросклероза. Известно, что основными признаками прогрессирования РН являются протеинурия, артериальная гипертензия, постепенное снижение функции почек, вплоть до развития терминальной хронической почечной недостаточности (тХИП), в связи с чем в 15-25% случаев требуется проведение диализа и трансплантации почки (Mills K.T., 2015; Calderon-Margalit R., 2018). Однако до настоящего времени в литературе остаются недостаточно изученными факторы предрасположенности к развитию нефропатии при ПМР, патогенетические механизмы развития и прогрессирования этой патологии, а также последовательность включения данных механизмов, стадийность развития патологического процесса при РН. Понимание этих процессов является необходимым для научного обоснования ранней нефропротективной терапии и методов профилактики прогрессирования

склеротических изменений в почках при ПМР и развития тяжелых осложнений. Все это дает основание считать обоснованным и актуальным исследование Зайковой Н.М., целью которого явилось установить закономерности формирования и прогрессирования рефлюкс-нефропатии для разработки системы прогнозирования течения заболевания и обоснования ренопротективной терапии.

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

В соответствии с целью исследования автором сформулирована патогенетически обоснованная концепция прогрессирования РН у детей с ПМР, основными составляющими которой являются наличие высоких степеней рефлюкса, ассоциация с аллельным полиморфизмом гена *ACE* и рецидивирующей инфекцией мочевой системы.

Впервые в нефрологии выделены новые информативные маркеры развития и прогрессирующего течения рефлюкс-нефропатии у детей и предложен метод ранней диагностики почечного повреждения, позволяющий сформировать тактику лечения, предупреждающую прогрессирование рефлюкс-нефропатии (защищен патентом РФ). Автором получены новые и высоко диагностически информативные данные о тяжести тубулоинтерстициальном повреждении при оценке мочевых уровней профиброгенных факторов, β 2-микроглобулина, прокальцитонина и свободного оксипролина,

Научной новизной обладает и имеет практическую значимость установленная связь между тяжестью РН и полиморфизмом генов *ACE* у пациентов с ПМР. Доказано, что для детей с генотипом D/D гена *ACE* характерно формирование тяжелых форм рефлюкс-нефропатии и развитие более тяжелых стадий заболевания.

В эксперименте изучена этапность прогрессирования нефросклероза, доказана эффективность раннего применения ренопротективной терапии при РН, способствующей снижению просклеротических факторов и маркеров эндотелиальной дисфункции. Такие же результаты получены автором в клинических условиях. Ренопротективная терапия на ранних этапах развития РН

позволила предупредить дальнейшее прогрессирование тубулоинтерстициального процесса у большинства детей.

Научно обоснованы алгоритмы развития и прогрессирования РН у детей с ПМР, позволяющие на ранних этапах заболевания формировать группы детей с высоким риском развития и прогрессирования склеротических процессов в почечной ткани.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, основаны на достаточном количестве анализируемого материала при использовании современных и информативных методов исследования, научном анализе клинико-параклинических данных и современной статистической обработке результатов исследования с применением методов параметрической и непараметрической статистики, корреляционного анализа, а также факторного и регрессионного анализа.

Научные положения, выводы и практические рекомендации диссертации полностью базируются на результатах исследования, адекватны поставленным задачам, что позволило автору обосновать положения, выносимые на защиту, и сделать обоснованные выводы. Результаты исследования высоко достоверны и соответствуют современным требованиям ВАК РФ.

Научно-практическая значимость результатов диссертации

Определение полиморфизма гена ACE у пациентов с ПМР позволит выделить больных с высоким риском прогрессирования РН. Предложенный метод ранней диагностики почечного повреждения у детей с ПМР, позволяет сформировать тактику лечения, предупреждающую прогрессирование патологического процесса, защищен патентом РФ. Определение характера нарушений функционального состояния почек и внутрпочечной гемодинамики у детей с ПМР и РН необходимо в установлении тяжести и прогнозирования течения почечного повреждения при длительном наблюдении за больными с ПМР.

С помощью эксперимента доказана эффективность раннего назначения иАПФ, заключающаяся в менее выраженном развитии нефросклероза,

сопровождающемся более низким уровнем профиброгенных факторов и свободного оксипролина в моче у крыс.

Детям с ПМР предложено раннее назначение иАПФ до развития у них протеинурии и выраженных признаков нефросклероза по данным ДМСА-сцинтиграфии с целью предупреждения прогрессирования РН. Предложенные алгоритмы ранней диагностики и прогрессирования РН у детей могут быть использованы педиатрами и нефрологами на этапах наблюдения данных пациентов.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Научные положения и практические рекомендации исследования внедрены в клиническую практику нефрологического и урологического отделений ГБУЗ города Москвы «Детская городская клиническая больница №9 им. Г.Н. Сперанского Департамента здравоохранения города Москвы», отделения нефрологии Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, в лекционный курс программ повышения квалификации «Педиатрия» на кафедре педиатрии и детских инфекционных болезней Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Оценка содержания диссертации, её завершенность в целом

Диссертация изложена на 449 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 8 глав собственных результатов исследования, заключения с обсуждением результатов, выводов и практических рекомендаций. Работа содержит 56 таблиц и 180 рисунков, 2 схемы. Библиографический указатель включает 391 источник, из них 91 отечественных и 300 зарубежных авторов.

Во введении обоснована актуальность темы диссертации и показана степень ее разработанности; определены цель и научные задачи работы; отражена научная

новизна работы; ее теоретическая и практическая значимость; приведены методология и основные методы исследования основные положения, выносимые на защиту; обоснована степень достоверности результатов и их апробация.

В первой главе проведен литературный обзор современных представлений о распространенности и факторах риска возникновения и прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей. Подробно изложены патогенетические механизмы развития склеротических изменений при различных нефропатиях у детей.

Проведен обзор современных методов диагностики рефлюкс-нефропатии у детей. Автором убедительно показано, что до настоящего времени нет достаточно достоверных диагностических маркеров, прогнозирующих раннее прогрессирующее течение РН. Поиск маркеров почечного повреждения, позволяющих проводить раннее выявление и определение характера патологических изменений в почках, а также дифференцировать поражение различных отделов нефрона, оценить выраженность воспаления и интенсивность фиброгенеза. Следовательно, вопросы ранней диагностики функциональных и органических причин прогрессирования РН у детей с ПМР в литературе освещены недостаточно, что обосновывает необходимость дальнейших исследований в этом направлении.

Во втором главе изложены общие методы исследования и общая характеристика обследованных больных. Работа состоит из 2 частей: клинической и экспериментальной. Больные обследованы с использованием современных диагностически значимых методов верификации диагноза. Специальные методы включали в себя: исследование мочевого уровня профиброгенных маркеров, показателей коллагенообразования, ферментов, микроальбумина и β -2 микроглобулина, прокальцитонина, определение уровня ангиотензина II (АнгII), трансформирующего фактора роста (TGF- β 1) в сыворотке крови. Автором предложен оригинальный экспериментальный модель формирования РН с подробным изучением морфологических изменений, оценкой влияния нефропротективной терапии.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 13 и среды статистических расчетов согласно рекомендациям по проведению медицинской статистики [сайт www.statsoft.ru].

В третьей главе описывается клиническая характеристика РН у детей с ПМР. Объем исследований достаточный (318 детей с ПМР). Анализ этих данных, позволил авторы выявить определенные закономерности развития РН у детей с ПМР: высокая частота ПМР IV степени (в 36,5% случаев); более раннее выявление рефлюкса у мальчиков (до 3-х лет у 63,8); высокая степень рефлюкса и рецидивирующий характер инфекции мочевой системы (ИМС); значительное нарушение внутри почечного кровотока ХБП II и III стадии при прогрессировании нефросклероза. Анализ изучаемых показателей позволил выявить, что обнаруженные изменения взаимосвязаны с прогрессирующим течением РН, а именно: персистирование высокой степени ПМР, длительность заболевания, частота рецидивирования ИМС.

В четвертом разделе описано клинико-диагностическое значение определения маркеров развития и прогрессирования РН у детей.

Доказано, что в подгруппах с прогрессирующим течением РН, значимо чаще выявлялись высокие степени ПМР, чем в группе детей без РН (группа сравнения) и у пациентов со стабильным течением РН. У больных дошкольного возраста чаще выявлялись С и D типы с нефросклерозом и прогрессирующее течение РН.

Установлена зависимость почечной гемодинамики от течения и тяжести РН: при прогрессирующем течении РН отмечалось снижение скорости кровотока и снижение показателей сопротивления на междолевых артериях). Выявление повышенного уровня МАУ у детей с А и В типы РН может служить ранним диагностическим признаком прогрессирующего течения нефросклероза.

При исследовании профиброгенных маркеров, показателей коллагенообразования, ферментов и микроальбумина, β -2 микроглобулина, прокальцитонина в моче выявлена повышенная их экскреция у детей со сниженной концентрационной функцией почек и низкой СКФ.

У детей с легкой стадией (А и В типами) и стабильным течением РН выявлено умеренное повышение профиброгенных маркеров (AngII и TGF- β 1),

повышенный уровень маркеров коллагенообразования что свидетельствует об активности процессов склерозирования.

У детей со стабильным течением и тяжелыми стадиями (С и D типами) РН (3А подгруппа) выявлено значимое увеличение AngII и TGF- β 1, показателей коллагенообразования и тубулярной дисфункции:

При помощи кластерного анализа (методами многомерного шкалирования, конструирования дендрограмм и k-средних) установлено, что указанные показатели являются маркерами прогрессирования тубулоинтерстициального поражения почек.

В пятом разделе проведено моделирование РН и определение маркеров развития и прогрессирования нефросклероза у крыс. В эксперименте изучена динамика морфологических изменений в почках и проведён статистический анализ таких морфологических изменений как клеточная инфильтрация, интерстициальный отек, интерстициальный фиброз, полнокровие клубочков в зависимости от экспериментальной модели, наличия ПМР и длительности воздействия патологического фактора, а также определена эффективность применения иАПФ.

При инфицировании мочевой системы и стенозе уретры выявленные нарушения в почечной паренхиме сопровождались интерстициальным отёком различной степени выраженности, дистрофией и ишемией с исходом в тубулоинтерстициальный фиброз и прогрессированием к 3 месяцу эксперимента.

Установлено, что при снижении активности воспалительных изменений в почечной ткани на 6 месяце эксперимента имеются стойкие сосудистые нарушения и прогрессирование процессов склерозирования. Другим немаловажным фактом, наблюдаемым в настоящем эксперименте, явилось сочетание пиелонефрита с пролиферативным гломерулитом, что

Выявлено, что у особей, не получавших лечение иАПФ, отмечалась повышенная экскреция с мочой факторов коллагенообразования и тубулярной дисфункции на всех месяцах наблюдения по сравнению с его уровнем у крыс контрольной группы ($p < 0,05$). Выраженное снижение уровней указанных факторов с мочой установлено у особей на терапии иАПФ начиная с 3 месяца эксперимента,

и значимое снижение уровней на 6 месяце эксперимента ($p < 0,05$). Эти данные подтверждают нефропротективный эффект иАПФ.

В **шестой главе** проведен анализ ассоциаций генотипов гена ангиотензин-превращающего фермента (*ACE*) у детей с РН.

Доказано, что для детей с генотипом D/D гена ACE характерны: более высокая степень ПМР, более тяжелая стадия РН, снижение функции почек в виде снижения СКФ и концентрационной функции почек, статистически значимое повышение мочевого уровня AngII и TGF- β 1, МАУ и β 2-МГ, СВО, α -1-ГЛ и ПКТ. С прогрессирующим течением РН преобладают дети с генотипом D/D гена ACE в отличии от больных с нормальной СКФ и нормостенурией, и стабильным течением РН. Автор отмечает, что генотип D/D является фактором генетической восприимчивости к прогрессированию ХПН у пациентов с ПМР.

В **седьмой главе** оценена эффективность применения иАПФ у детей с РН.

По результатам исследования уже через 12 месяцев на терапии иАПФ у детей с А и В типами РН концентрационная и фильтрационная функции почек во всех случаях оставались сохранными; не выявлено прогрессирование ХБП, отмечено улучшение показателей внутри почечного кровотока у большинства больных, а также установлено снижение мочевых уровней профиброгенных маркеров, свободного оксипролина, микроальбумина и прокальцитонина.

Несмотря на длительный прием иАПФ (в течение 12 месяцев), у больных с С и D типами РН на терапии иАПФ снижение концентрационной функции сохранялось в 18,2% случаев. В 6,1% случаев имело место ХБП 2 ст. (без ухудшения в динамике при сравнении с исходными данными); установлена нормализация показателей периферического сопротивления в 75,8% случаев, а нормализация почечного кровотока в 84,8% случаев. Экскреция AngII, TGF- β 1, МАУ, β 2-МГ, СВО и ПКТ в моче снизилась на 30-40%, но сохранялась повышенной при сравнении с больными А и В типами. В результате проведенного исследования установлена эффективность терапии иАПФ у детей с РН независимо от степени тяжести, что проявилось в улучшении функционального состояния почек в виде повышения СКФ и нормализации концентрационной функции почек, а также в улучшении параметров внутрпочечной гемодинамики, в снижении уровня

мочевой экскреции профиброгенных факторов, МАУ, β 2-МГ и ПКТ, что подтверждалось полученными автором экспериментальными данными.

У детей с РН, не получавших терапию иАПФ, установлено прогрессирование заболевания, что проявлялось снижением функциональных параметров почек, снижением показателей внутрпочечной гемодинамики, увеличением мочевой экскреции профиброгенных факторов, коллагенообразования, МАУ, β 2-МГ и ПКТ.

Установлено, что нефропротективное действие иАПФ наиболее эффективно на ранних стадиях (А и В типы) РН за счет ингибирования свободного оксипролина в почечной ткани, что позволяет сохранить и даже улучшить почечные функции, тем самым отдаляя срок развития терминальной стадии ХПН. Еще больший интерес представляет заключение автора о необходимости назначения иАПФ пациентам с ПМР без признаков РН по данным статической нефросцинтиграфии, но с повышенным уровнем мочевой экскреции профиброгенных факторов роста и свободного оксипролина с целью профилактики развития нефросклероза.

В восьмом разделе представлена модель индивидуального прогноза развития и прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей.

Отмечено, что, у пациентов с СКФ <90 мл/мин/1.73 м² показатель (RR) вероятности развития РН (любой степени) в 6 раз выше, чем у пациентов с СКФ >90 мл/мин/1.73 м². Другим существенным фактором стал ген ACE с RR = 5,12. Так, у детей с D/D генотипом – риск развития РН в 5 раз выше, чем у пациентов с I/I и I/D генотипами. Создана модель индивидуального прогноза течения РН с выделением неблагоприятных признаков: снижение СКФ, увеличение длительности заболевания, увеличение уровня AngII и TGF- β 1, β 2-МГ в моче при любых типах РН.

Предложены 2 алгоритма развития и прогрессирования РН у детей с ПМР, позволяющие на ранних этапах заболевания формировать группы детей с высоким риском развития и прогрессирования склеротических процессов в почечной ткани.

В главе «**Заключение**» обобщены результаты проведенного научного исследования, проведено их сопоставление с данными литературы.

По материалам диссертации опубликовано 58 печатных работ, в том числе 17 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 5 статей в зарубежных журналах, 1

По оформлению и содержанию диссертации принципиальных замечаний нет

Диссертация Зайковой Н.М. на тему «Закономерности формирования и прогнозирование течения рефлюкс-нефропатии у детей в обосновании ранней ренопротективной терапии (клинико-экспериментальное исследование)» имеет высокую научную и практическую ценность. Ее результаты рекомендованы для внедрения в практическую работу врача-педиатра.

В процессе оппонирования диссертации возникли вопросы:

1. Каков механизм повышения уровня прокальцитонина в моче при прогрессирующем течении рефлюкс-нефропатии у детей?
2. Какой минимальный диагностически значимый объем клинико-лабораторных критериев Вы можете предложить для прогнозирования РН у детей с ПМР?
3. Как длительно необходимо провести нефропротективную терапию у детей с ПМР?

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат полностью соответствует требованиям, отражает основные результаты, выводы, положения диссертации, включает список опубликованных автором печатных работ

Заключение о соответствии диссертации критериям

«Положения о присуждении ученых степеней»

Диссертационная работа Зайковой Натальи Михайловны на тему: «Закономерности формирования и прогнозирование течения рефлюкс-нефропатии у детей в обосновании ранней ренопротективной терапии (клинико-экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.08 — Педиатрия, является завершенной научной квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной проблемы по усовершенствованию диагностики и прогнозирования течения различных вариантов рефлюкс-нефропатии у детей на основе разработанных новых научных подходов.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Зайковой Н. М. на тему:

