

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

профессора кафедры факультетской педиатрии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации доктора медицинских наук, доцента Зорина Игоря Владимировича 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 кандидата 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 кандидата медицинских наук по специальности 14.01.08 — «Педиатрия», посвящена актуальной проблеме в педиатрии и нефрологии - прогнозированию формирования, прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом и их профилактике.

Тубуло-интерстициальные болезни почек (ТИБП) у детей занимают ведущее место среди хронических заболеваний почек (ХЗП), приводящих к снижению качества жизни и социальной активности пациентов, ранней инвалидизации с формированием хронической болезни почек (ХБП), терминальной почечной недостаточности (тХПН) уже в детском возрасте. ТИБП, ассоциированные с уropатиями с нарушением уродинамики, осложненных ренальной инфекцией, рефлюкс-нефропатией (РН) в структуре

причин ХБП встречаются от 22% (North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study, 2019) до 57,6 % (European Renal Association-European Dialysis Transplant Association, 2018). В последние годы отмечается рост частоты ТИБП в детском возрасте. В связи с этим, разработка информативных методов ранней диагностики и прогнозирования течения ТИБП, а также определение патогенетических подходов к нефропротективной терапии и разработка эффективных профилактических мероприятий для преодоления этих негативных тенденций является актуальным и своевременным. В настоящее время в литературе широко обсуждается патогенетическое значение в инициации интерстициального повреждения и прогрессировании нефросклероза у детей нарушений уродинамики, интратрениальной гемодинамики, альбуминурии, цитокинов и факторов роста. Вместе с тем, остаются недостаточно изученными закономерности формирования ТИБП у детей, не установлены ведущие патогенетические факторы, не разработаны критерии диагностики формирования и прогрессирования ТИБП с учетом иммунных и неиммунных патофизиологических механизмов, отсутствуют алгоритмы ранней диагностики и прогнозирования течения ТИБП, в связи с чем недостаточно эффективно используется нефропротективная терапия ТИБП у детей.

Все это дает основание считать обоснованным и актуальным исследование Зайковой Н.М, целью которого явилось установить закономерности формирования и прогрессирования рефлюкс-нефропатии на основе клинических и экспериментальных данных для разработки системы прогнозирования течения заболевания и обоснования ренопротективной терапии.

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

Сформулирована патогенетически обоснованная концепция прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей с пузырно-мочеточниковым

рефлюксом, определяемая преимущественным влиянием высоких степеней пузырно-мочеточникового рефлюкса, ассоциированных с аллельным полиформизмом гена *ACE* и рецидивирующей инфекцией мочевой системы.

Впервые в нефрологии предложен метод ранней диагностики почечного повреждения у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом, позволяющий сформировать тактику лечения, предупреждающую прогрессирование рефлюкс-нефропатии (защищен патентом РФ).

Впервые в нефрологии с использованием подходов доказательной медицины выделены новые информативные маркеры развития и прогрессирующего течения рефлюкс-нефропатии, на основании которых разработано уравнение индивидуального прогноза.

Получены новые данные, свидетельствующие о высоком диагностическом значении определения мочевых уровней профиброгенных факторов, β 2-микроглобулина, прокальцитонина и свободного оксипролина, которые коррелируют с тяжестью почечного поражения у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом.

Установлена связь между тяжестью рефлюкс-нефропатии и полиморфизмом генов *ACE* у пациентов с пузырно-мочеточниковым рефлюксом. Доказано, что для детей с генотипом *D/D* гена *ACE* характерно формирование тяжелых форм рефлюкс-нефропатии и развитие более тяжелых стадий заболевания.

Определены морфологические этапы формирования и прогрессирования нефросклероза у крыс в зависимости от экспериментальной модели. Доказано, что раннее назначение ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента снижает выраженность тубулоинтерстициального фиброза и уровни ангиотензина II, β 2-микроглобулина и свободного оксипролина в моче у крыс.

Ренопротективная терапия ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента эффективна независимо от стадии рефлюкс-нефропатии, и

позволяет предупредить дальнейшее прогрессирование тубулоинтерстициального процесса у большинства детей.

Научно обоснованы алгоритмы развития и прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом, 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 формирования и прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей с ПМР.

Метод ранней диагностики почечного повреждения у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом, защищенный патентом РФ, обосновывает необходимость ранней нефропротективной терапии у пациентов с рефлюкс-

нефропатией, предупреждающей прогрессирование интерстициального фиброза. Параметры функционального состояния почек и внутривенной гемодинамики по данным доплерографии сосудов почек у детей с ПМР и рефлюкс-нефропатией позволяют прогнозировать течение тубуло-интерстициального поражения почек у пациентов с пузырно-мочеточниковым рефлюксом.

Экспериментально доказана эффективность раннего назначения иАПФ, заключающаяся в замедлении прогрессирования интерстициального фиброза, сопровождающаяся более низким уровнем профиброгенных факторов роста и свободного оксипролина в моче у крыс.

Детям с пузырно-мочеточниковым рефлюксом доказана необходимость раннего назначения иАПФ с нефропротективной целью до развития у них протеинурии, нефросклероза по данным ДМСА-сцинтиграфии с целью профилактики прогрессирования тубуло-интерстициального поражения. Предложены алгоритмы ранней диагностики и прогнозирования прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей с ПМР.

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» (главный врач д.м.н., профессор А.А. Корсунский), отделения нефрологии ОСП - «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» (и.о. директора д.м.н, профессор В.В. Длин) 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 исследования; 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 первом разделе проведен обзор данных отечественных и зарубежных публикаций по вопросам распространенности хронических заболеваний почек, приводящих к формированию интерстициального фиброза, факторах риска инициации и прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей. Изложены современные концепции патогенетических механизмов развития и прогрессирования тубуло-интерстициального поражения почек у детей.

Проведен обзор современных методов диагностики рефлюкс-нефропатии у детей, факторов риска и предикторов ее развития. Отражены вопросы назначения нефропротективной терапии у пациентов с хроническими заболеваниями почек с формированием ХБП, в том числе при рефлюкс-уропатиях, рефлюкс-нефропатии.

Во втором разделе изложены методы исследования и характеристика обследованных больных. Работа состоит из 2 частей: клинической и экспериментальной. Всем детям проводились клинико-anamnestические,

инструментальные и лабораторные исследования. Лабораторные исследования включали в себя общеклинические и специальные методы обследования. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 13 (производитель – Statsoft Inc.) и среды статистических расчетов R (www.cran.r-project.org) согласно рекомендациям по проведению медицинской статистики [сайт www.statsoft.ru].

В третьем разделе описывается клиническая характеристика рефлюкс-нефропатии у 318 детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом (ПМР). Доказано, что в подгруппах с прогрессирующим течением РН (2Б и 3Б подгруппы) значимо чаще выявлялись высокие степени ПМР, чем в группе детей без РН (группа сравнения) и у пациентов со стабильным течением РН (2А и 3А подгруппы), где чаще диагностировались низкие степени ПМР. Установлена зависимость почечной гемодинамики от течения и тяжести РН: при прогрессирующем течении РН отмечалось снижение параметров внутрипочечной гемодинамики по данным доплерографии сосудов почек.

Установлена связь частоты нарушений СКФ от степени выраженности РН: чем больше склеротические изменения по данным нефросцинтиграфии, тем ниже СКФ. Повышенный уровень альбумина в моче чаще диагностировался при прогрессирующем течении РН. Выявление повышенного уровня МАУ у детей с А и В типами РН может служить ранним диагностическим признаком прогрессирующего течения интерстициального фиброза.

Доказано значение высоких степеней ПМР, частых рецидивов ИМС в прогрессировании РН.

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

Доказано, что повышенный уровень экскреции AngII связан с формированием склеротических процессов в почечной ткани у детей с ПМР.

Прогрессирующее течение РН ассоциируется со сниженным СКФ и со сниженной концентрационной функцией почек, снижением показателей периферического сопротивления по данным доплерографии сосудов почек и высоким уровнем экскреции с мочой AngII и TGF- β 1.

Доказано, что у детей с прогрессирующим течением РН характерен повышенный уровень α -1-ГЛ в моче (чувствительность – 75,5% и специфичность – 76,9%, RR 1.01-1.25, $p=0.024$; OR – 1.01-1,25, $p=0.029$), что позволяет его использовать в качестве дополнительного неинвазивного критерия прогрессирования РН.

Установлено, что часто рецидивирующее течение ренальной инфекции является неблагоприятным фактором, способствующим прогрессированию структурно-функциональных нарушений в ткани почек у детей с ПМР, и проявляется повышенным уровнем β 2-МГ и МАУ в моче, что может быть расценено как признак прогрессирования тубулоинтерстициального поражения.

Доказано, что у всех детей с РН имеется нарушение динамического равновесия между распадом и биосинтезом коллагена в сторону относительного превалирования процессов его распада в виде усиления выделения свободной фракции оксипролина с мочой, особенно при тяжелых стадиях заболевания и является показателем интенсивности данного процесса при тубулоинтерстициальном склерозе.

Научно обосновано, что частое рецидивирование ИМС сопровождается развитием склеротических процессов в почечной ткани, что отражается высоким уровнем профиброгенных маркеров (TGF- β 1 и AngII) в моче. Доказано, что мочевого уровня ПКТ отражает степень воспалительного процесса в тубулоинтерстициальной ткани почек.

При помощи кластерного анализа (методами многомерного шкалирования, конструирования дендрограмм и k -средних) установлено, что AngII, TGF- β 1, СВО, α -1-ГЛ и МАУ являются маркерами прогрессирования тубулоинтерстициального поражения почек.

В пятом разделе проведено моделирование нефросклероза и определение маркеров развития и прогрессирования нефросклероза у крыс.

Установлено, что уровень клеточной инфильтрации в почечной ткани на 1, 3 и 6 месяцах эксперимента был значимо выше у крыс при сочетании обструкции и инфицирования мочевого пузыря, чем у крыс только со стенозом уретры ($p < 0,01$). Наиболее высокий уровень клеточной инфильтрации в почечной ткани был у крыс с инфицированием мочевых путей на 3 и 6 месяцах эксперимента по сравнению с остальными группами ($p < 0,05$).

Установлено, что при снижении активности воспалительных изменений в почечной ткани на 6 месяце эксперимента имеются стойкие сосудистые нарушения и прогрессирование процессов склерозирования, сочетание пиелонефрита с пролиферативным гломерулитом, что также способствует прогрессированию нефропатии.

Установлено выраженное снижение уровней AngII, TGF- β 1, β 2-МГ, МАУ и СВО с мочой у крыс, получавших терапию иАПФ начиная с 3 месяца эксперимента, что свидетельствует о восстановлении эпителия проксимальных канальцев и подтверждает нефропротективный эффект иАПФ. В шестом разделе проведен анализ ассоциаций генотипов гена ангиотензин-превращающего фермента (*ACE*) у детей с рефлюкс-нефропатией.

Установлена зависимость тяжести ПМР от генотипов гена *ACE*: в группе детей с генотипом I/I значимо чаще выявлялась I степень ПМР ($p = 0,014$) при сравнении с генотипом D/D в группе детей с генотипом D/D наиболее часто определялась IV степень ПМР по сравнению с генотипом I/I ($p = 0,02$). Установлено, что генотип I/I гена значимо чаще встречался у детей без РН и с А и В типами РН; у детей с генотипом D/D значимо чаще встречались больные с С и D типами РН (в 4 раза чаще, чем у детей с генотипом I/I, $p < 0,05$).

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.

В **седьмом разделе** оценена эффективность применения ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента у детей с рефлюкс-нефропатией.

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, снижении уровня мочевой экскреции профиброгенных факторов, МАУ, β 2-МГ и ПКТ.

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. У пациентов с ПМР без признаков РН по данным статической нефросцинтиграфии, но с повышенным уровнем мочевой экскреции профиброгенных факторов роста и свободного оксипролина показано назначение иАПФ для профилактики развития нефросклероза.

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

В результате логистического регрессионного анализа создана модель индивидуального прогноза течения РН: снижение СКФ является неблагоприятным признаком, более характерным для тяжелой стадии (С и D типы) РН, особенно при ее прогрессирующем течении. С увеличением длительности заболевания усугубляются склеротические процессы в почках,

что доказывается увеличением уровня AngII и TGF- β 1 в моче при любых типах РН и их прямой корреляционной связью со склеротическими изменениями по данным ДМСА-сцинтиграфии в динамике наблюдения. Следовательно, повышенная мочевая экскреция AngII и TGF- β 1 может использоваться в качестве маркеров развития склеротических изменений в почечной ткани у детей с ПМР, а повышенный мочевого уровень β 2-МГ свидетельствует о прогрессировании нефросклероза. Установленная прямая корреляционная связь между уровнем мочевого экскреции изучаемых маркеров и степенью тяжести РН у больных с ПМР доказывает возможность их использования в качестве маркеров ранней диагностики и прогнозирования прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей.

На основании полученных данных создан алгоритм, позволяющий с чувствительностью 88,1%, специфичностью 100% определить риск развития у больных с ПМР при уровне AngII в моче более 50 нг/ммоль.

Разработан алгоритм, позволяющий прогнозировать стабильное или прогрессирующее течение рефлюкс-нефропатии на основании определения уровня ПКТ в моче (чувствительность 72,7%, специфичность 68,2%). При концентрации в моче ПКТ менее 4,8 нг/ммоль Cr прогнозируется стабильное течение РН, при уровне ПКТ более 4,8 нг/ммоль Cr у больного прогнозируется прогрессирующее течение РН, что требует коррекции дозы нефропротективной терапии и проведение ДМСА-сцинтиграфии с оценкой морфологических изменений в тубулоинтерстициальной ткани почек.

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

Замечания по диссертационной работе Н.М. Зайковой: 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. Что Вы понимаете под терминами тубулоинтерстициальное повреждение и тубулоинтерстициальный процесс?
2. Каков патофизиологический механизм формирования и прогрессирования интерстициального фиброза у пациентов с пузырно-мочеточниковым рефлюксом?
3. В чем заключается нефропротективный эффект ингибиторов ангиотензинконвертирующего фермента у пациентов с рефлюкс-нефропатией?

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 задачи 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 Натальи Михайловны на тему: «Закономерности формирования и прогнозирование течения рефлюкс-нефропатии у детей в обосновании ранней ренопротективной терапии (клинико-экспериментальное исследование)», соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ N2 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции Постановлений Правительства РФ N2335 от 21.04.2016 г., N2748 от 02.08.2016 г.), а её автор Н.М. Зайкова заслуживает

