

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.61-002-008.6-053.2/.6-091

САХАРОВ
Иван Владимирович

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕФРОТИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ
И ПОДРОСТКОВ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальностям 14.03.02 – патологическая анатомия
14.01.08 – педиатрия

Минск 2013

Работа выполнена в УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Научные руководители: **Черствый Евгений Давыдович**,
доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки Республики Беларусь,
заведующий кафедрой патологической анатомии УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Сукало Александр Васильевич,
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси, заслуженный деятель науки Республики Беларусь,
заведующий 1-й кафедрой детских болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Швед Иван Адамович**,
доктор медицинских наук, профессор,
главный научный сотрудник НИЛ ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования

Кожарская Лариса Григорьевна,
доктор медицинских наук, профессор

Оппонирующая организация: УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится 5 апреля 2013 г. в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.02 при УО «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83. Телефон учёного секретаря: 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан « ____ » _____ 2013 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
кандидат медицинских наук, доцент

 А. И. Герасимович

ВВЕДЕНИЕ

Нефротический синдром (НС) – одна из самых распространённых гломерулопатий у детей. В отличие от взрослых, у которых НС чаще бывает вторичным (диабетическая нефропатия, гломерулопатии, ассоциированные с инфекциями или приёмом лекарственных средств и др.), у детей НС, как правило, первичный.

Одной из ключевых характеристик НС считается ответ на лечение глюкокортикостероидами (ГКС). Резистентность заболевания к ГКС приводит к необходимости назначения других иммуносупрессантов. Выявление стероид-резистентности требует времени, и до назначения циклоспорина или других препаратов у пациента развиваются побочные эффекты от применения ГКС. Прогнозирование стероид-резистентности на ранних этапах заболевания может уменьшить время применения ГКС, а значит, снизить число и частоту их побочных эффектов. До настоящего времени не выявлено признаков, позволяющих точно прогнозировать течение НС, и их поиск относится к приоритетным направлениям изучения этой патологии.

Наиболее тесно связанным с ответом на ГКС признаком являются гистологические изменения в ткани почки больного. Во многих исследованиях последнего десятилетия выявлена одна и та же тенденция. Хотя сейчас первое место среди гистологических вариантов занимает нефропатия минимальных изменений (НМИ), в последнее время отмечается увеличение частоты фокально-сегментарного гломерулосклероза (ФСГС). В то же время растёт число случаев резистентности к ГКС терапии. Причины этого роста неясны, но связь ФСГС со стероид-резистентностью прослеживается довольно чётко.

Несмотря на наличие такой клинико-морфологической ассоциации многие случаи стероид-резистентного НС остаются без объяснения. В связи с этим возникает необходимость разработки способа прогнозирования стероид-резистентности на основе более доступных методов. Таким методом может стать иммуногистохимическое исследование (ИГХ) нефробиоптата, которое позволяет выявить изменения экспрессии разных биологических молекул в тканях.

Настоящее исследование посвящено поиску факторов, позволяющих прогнозировать течение НС и ответ на терапию ГКС, и проведено с использованием клинических и морфологических методов.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами, темами. Работа выполнена в рамках темы НИР по заданию 02.07 ОНТП «Здоровье женщины и ребенка – благополучие семьи и государства» «Разработать и внедрить систему дифференциальной диагностики гломерулярных болезней почек у детей на основе комплексного иммуноморфологического и электронно-микроскопического исследования нефробиоптата», договор № 02.07/10 от 25.02.2010 года.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: выявить связи между клиническими признаками и морфологическими изменениями в почке для прогнозирования резистентности к глюкокортикостероидным препаратам и улучшения качества лечения при нефротическом синдроме у детей и подростков.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать морфологические изменения в ткани почек при нефротическом синдроме на основании гистологического и электронно-микроскопического исследования.

2. Определить экспрессию в ткани почек белков, регулирующих селективную фильтрацию в клубочках (нефрина и подокаликсина), и установить их роль в развитии клинических проявлений нефротического синдрома.

3. Оценить с применением морфометрических методов количественные изменения клеточных компонентов и капилляров клубочков почки и установить их роль в развитии клинических проявлений нефротического синдрома.

4. Установить взаимосвязи между гистологическими, иммуногистохимическими и электронно-микроскопическими изменениями ткани почек и клиническими проявлениями нефротического синдрома.

5. Выявить клинические и морфологические признаки, определяющие прогноз течения нефротического синдрома и ответ на глюкокортикостероидную терапию.

Объект и предмет исследования

Объект исследования – пациенты с НС и материал пункционных нефробиопсий. Предмет исследования – морфологические изменения в ткани почек и клинические проявления у пациентов с НС.

Положения, выносимые на защиту

1. При нефротическом синдроме наблюдаются количественные изменения клеточного состава клубочков и их капилляров. Патология подоцитов проявляется количественными и ультраструктурными

изменениями (слиянием и изменением формы малых ножек, микроворсинчатой трансформацией поверхности клеток, вакуолизацией цитоплазмы).

2. Резистентность к глюкокортикостероидным препаратам и гломерулосклероз при нефротическом синдроме связаны со снижением числа подоцитов в клубочке. Плотность подоцитов ниже 21,65 клеток на 10000 мкм² является неблагоприятным прогностическим фактором развития стероид-резистентности.

3. Протеинурия при нефротическом синдроме сопровождается изменением экспрессии белков, регулирующих селективную фильтрацию в клубочках: снижением экспрессии подокаликсина и нефрина, а также перераспределением нефрина в клубочках. Повышение протеинурии связано со снижением экспрессии нефрина.

4. У пациентов с нефротическим синдромом ультраструктурные изменения подоцитов характеризуются нарушением экспрессии нефрина и подокаликсина: «слияние» малых ножек ассоциировано со снижением экспрессии подокаликсина, вакуолизация цитоплазмы – со снижением экспрессии нефрина.

Личный вклад соискателя. Постановка проблемы, формулировка целей и задач исследования, положений, выносимых на защиту, проведены совместно с научными руководителями. Пересмотр архивных гистологических препаратов осуществлялся совместно с доцентом кафедры патологической анатомии, кандидатом медицинских наук Летковской Т.А.

Автором лично выполнены: анализ научной литературы и медицинской документации, отработка методики иммуногистохимического окрашивания, иммуногистохимическое исследование, разработка методики и проведение морфометрического анализа, отработка методики приготовления препаратов для электронной микроскопии, электронная микроскопия, выкопировка данных из медицинской документации, статистическая обработка результатов и их изложение в виде текста диссертации.

Основные научные результаты, представленные в диссертации, получены автором лично и изложены в статьях. Теоретическое обоснование и описание методики количественной оценки компонентов клубочков почки изложены в статьях [3, 5], материалах конференций [8, 10] и тезисах докладов [13, 14] – вклад диссертанта 90%. За разработку методики получено удостоверение на рационализаторское предложение [16]. Обоснование и описание метода электронной микроскопии изложено в материалах конференции [11] – вклад диссертанта 85%.

Разработанные методики внедрены в практику учреждений здравоохранения (УЗ «2-я городская детская клиническая больница»,

УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро»), что подтверждено актами внедрения.

Апробация результатов диссертации. Материалы диссертации доложены на Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы морфологической диагностики заболеваний» (Витебск, 2010), 15-м конгрессе Международной детской нефрологической ассоциации (Нью-Йорк, США, 2010), 44-м конгрессе Европейской ассоциации детских нефрологов (Дубровник, Хорватия, 2011), II съезде патологоанатомов Республики Беларусь (Гомель, 2011), международной конференции «БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики» (Минск, 2011), научной сессии БГМУ (Минск, 2010 и 2011), заседании Минского городского общества патологоанатомов (Минск, 2011), 45-м конгрессе Европейской ассоциации детских нефрологов (Краков, Польша, 2012).

Опубликованность результатов. По тематике исследования опубликовано 15 печатных работ (в том числе 1 без соавторов). Из них 5 статей в рецензируемых научных журналах, в которых изложены главные результаты диссертации, 6 – в сборниках научных трудов, 4 – тезисы докладов. Общий объем публикаций составил 2,1 авторских листа.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, основной части, состоящей из четырёх глав: обзор литературы, материал и методы исследований, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, заключения, библиографического указателя, включающего список использованных источников и список публикаций соискателя, приложений. Работа изложена на 115 страницах печатного текста, содержит 19 таблиц и 54 рисунка. Список литературы включает 9 русскоязычных и 151 иностранных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на архивном и текущем материале пункционных нефробиопсий, проведённых в УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска в период с сентября 2005 года по июнь 2011 года. В исследование не включались случаи с недостаточным количеством материала в биоптате (менее пяти клубочков) и, таким образом, непригодные для проведения морфометрического анализа.

Для гистологического и иммуногистохимического исследования были отобраны 100 биоптатов, для электронно-микроскопического – 22 биоптата.

Для морфологического и иммуногистохимического исследования использовались архивные парафиновые блоки, изготовленные из материала

пункционных нефробиопсий. Из блоков с помощью микротомы делали срезы толщиной 3 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином, по Массону, по MSB, реактивом Шиффа (ШИК-реакция) и серебрением по Джонсу.

Оценка морфологических параметров проводилась с использованием светового оптического микроскопа Leica DM5000B с цифровой камерой DFC 420 C при увеличении 100, 200, 400 и 1000.

Для проведения иммуногистохимического исследования предварительно была отработана методика окрашивания с подбором оптимального режима демаскировки, разведения первичных и вторичных антител, экспозиции хромогена.

Для морфометрического анализа при помощи микроскопа с цифровой камерой фотографировали пять случайно выбранных клубочков биоптата. Оценку экспрессии нефрина и подокаликсина проводили с использованием программы анализа изображений Aperio ImageScope и получали показатель экспрессии (ПЭ) и показатель интенсивности (ПИ). Морфометрическая оценка компонентов клубочков была выполнена с помощью программы WCIF ImageJ. Экспрессию белка WT1 использовали для идентификации подоцитов. В срезах клубочков измеряли площадь капиллярного тельца, подсчитывали число подоцитов (WT1-позитивные ядра), суммарное число других клеток клубочка (WT1-негативные ядра), а также количество просветов капиллярных петель. Морфометрические данные использовали для расчёта показателей: плотность подоцитов, плотность других клеток, плотность капилляров, число подоцитов на один капилляр. Для морфометрического анализа ультраструктурных изменений измеряли ширину малых ножек подоцитов и толщину базальной мембраны.

Клинические данные о пациентах были получены из медицинской документации (карт направления на морфологическое исследование и эпикризов из историй болезни).

Включённые в исследование пациенты были разделены на две группы в соответствии с клиническими проявлениями.

В первую группу (группа нефротического синдрома) были включены 65 пациентов с клиническими диагнозами «нефротический синдром», «нефропатия с протеинурией» (неполный нефротический синдром – протеинурия без экстраренальных проявлений) и «хронический гломерулонефрит, нефротическая форма». При гистологическом исследовании биоптатов из группы НС были диагностированы три варианта изменений: нефропатия минимальных изменений (46 пациентов), мезангиальная пролиферация (МзП, 6 пациентов) и фокально-сегментарный гломерулосклероз (13 пациентов). Пациенты с НС были разделены на 3 группы в зависимости от ответа на терапию ГКС (чувствительность,

резистентность, зависимость). Наличие резистентности определялось в случае отсутствия эффекта от назначения ГКС в дозе 2 мг/кг/сут в течение 8 недель. Зависимость от ГКС определялась в случае возникновения рецидива протеинурии при снижении дозы ГКС или при переходе на альтернирующий приём препаратов. В остальных случаях НС считался стероид-чувствительным.

Во вторую – группу сравнения (группа изолированной гематурии (ИГ)) – были включены 35 пациентов с клиническими диагнозами «нефропатия с гематурией», «хронический гломерулонефрит, гематурическая форма». Основным клиническим проявлением в группе сравнения была гематурия без экстраренальных проявлений. Протеинурия в этой группе либо была следовой, либо отсутствовала. Таким образом, в группе ИГ были исключены взаимные влияния между протеинурией и морфологическими изменениями в ткани почки. В группу сравнения не включались пациенты с IgA-нефропатией.

Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica 6.0 и MedCalc 11.6.0.0. Для анализа вида распределения данных в выборках использовали критерий нормальности Шапиро–Уилка. Количественные признаки при нормальном распределении представляли в виде М (s) и в виде Me (25%; 75) при распределении отличном от нормального. Для анализа взаимосвязи между показателями использовали коэффициенты Пирсона (r) и Спирмена (r_s). Для сравнения двух независимых выборок использовался t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна–Уитни, критерий χ^2 Пирсона и точный двусторонний критерий Фишера, для сравнения трёх независимых выборок – H-критерий Краскела–Уоллиса. Анализ вероятности наступления исхода (выживания) проводился по методу Каплана–Майера с тестом Гехана–Уилкоксона. Для оценки клинического значения полученных данных была построена регрессионная модель выживаемости (регрессионная модель для цензурированных данных). За уровень статистической значимости принимался $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При морфологическом исследовании нами были обнаружены три самых частых варианта изменений при НС. Частота вариантов в целом соответствует тенденциям, выявленным в других исследованиях. При разных морфологических вариантах возрастные характеристики в исследуемой группе были различны. Время от начала заболевания до

проведения нефробиопсии было значимо меньше при ФСГС (тест Краскела–Уоллиса, $p=0,03$). Возраст на момент биопсии и возраст дебюта заболевания при ФСГС были больше, чем при остальных вариантах (тест Краскела–Уоллиса, $p=0,054$ и $p=0,014$). При попарных сравнениях возрастных характеристик между морфологическими вариантами значимые различия были выявлены только между НМИ и ФСГС ($p<0,05$ для всех характеристик).

Картина общего анализа крови в группе НС в целом соответствовали возрастной норме за исключением повышенного содержания лейкоцитов и повышенной СОЭ, что может быть следствием применения ГКС. Изменения, обнаруженные при ИГ, являются следствием потери эритроцитов с мочой (снижение концентрации гемоглобина, снижение гематокрита).

Изменения в биохимическом анализе крови в группе НС соответствовали проявлениям нефротического синдрома: гипопроотеинемия, гипоальбуминемия, диспротеинемия (повышение относительного содержания α_2 - и β -глобулинов), гиперхолестеринемия. Показатели коагулограммы и иммунограммы в обеих группах находились в пределах нормальных значений.

В общем анализе мочи в группе ИГ наблюдалась гематурия от минимальной до выраженной. В группе НС гематурия наблюдалась в единичных случаях и только у двух пациентов достигала высоких уровней (более 40 эритроцитов в поле зрения). Лейкоцитурия в обеих группах была незначительной (максимум 8–10 лейкоцитов в поле зрения). Бактериурия была выявлена у 26,1% пациентов в группе НС и у 30% в группе ИГ – от слабой (+) до умеренной (++) . Статистически значимых различий по содержанию в моче лейкоцитов, эпителиальных клеток и бактерий обнаружено не было. Плотность мочи в обеих группах была нормальной.

Протеинурия в группе ИГ отсутствовала или была следовой. В группе НС она варьировала в широких пределах до максимума 515,5 мг/кг/сут. У некоторых пациентов из группы НС на момент биопсии протеинурия была ниже уровня нефротической (50 мг/кг/сут) или отсутствовала, что связано с проведённым до биопсии лечением. Медиана СКФ в обеих группах лежит в пределах нормальных значений. Снижение СКФ ниже 90 мл/мин наблюдалось у 3 пациентов группы НС и у 2 пациентов группы ИГ. При статистическом анализе не было выявлено значимых различий по снижению СКФ между исследуемыми группами (метод χ^2 Пирсона, $p=0,89$).

Резистентность к терапии ГКС при НС сопровождалась более тяжёлыми лабораторными изменениями, что характеризовалось большим снижением уровней общего белка и альбумина сыворотки (без статистически значимых различий), присоединением высокой лейкоцитурии и гематурии (тест Краскела–Уоллиса, $N=6,15$, $p=0,046$ и $N=8,86$, $p=0,012$).

При стероид-резистентном НС возраст на момент биопсии и возраст дебюта заболевания были больше, а длительность – меньше. У пациентов со стероид-резистентностью при гистологическом исследовании чаще выявлялся ФСГС ($\chi^2=14,46$, $p=0,006$). Чувствительность и зависимость от ГКС терапии чаще наблюдались у мальчиков (М:Ж=25:14 и М:Ж=7:3 соответственно), а резистентность несколько чаще у девочек (М:Ж=6:7), но без статистически значимых различий.

При анализе клинических признаков при разных гистологических вариантах НС были обнаружены следующие статистически значимые закономерности: повышение уровня креатинина сыворотки при ФСГС по сравнению с НМИ и МзП ($N=11,97$, $p=0,003$); повышение количества лейкоцитов ($N=9,2$, $p=0,01$) и эритроцитов в осадке мочи при ФСГС по сравнению с НМИ и МзП ($N=12,3$, $p=0,002$); более высокая степень выраженности перигломерулярного фиброза ($N=8,2$, $p=0,017$) и воспалительной инфильтрации стромы ($N=14,3$, $p<0,001$) при ФСГС.

При морфологическом исследовании у 46 пациентов была выявлена НМИ (33 мальчика, 13 девочек). У 32 пациентов наблюдалась чувствительность к терапии ГКС, у 4 – резистентность, у 8 – зависимость, у 2 пациентов данные об эффективности назначения ГКС отсутствовали. Медиана возраста дебюта при НМИ оказалась равна 4,00 (3,00; 5,75), что совпадает с данными большинства исследований, в которых возраст дебюта приходится на возраст до 6 лет.

Лабораторные данные при НМИ соответствовали общепринятым характеристикам заболевания (протеинурия, гипоальбуминемия, гиперлипидемия). В связи с проведённым до биопсии лечением протеинурия у многих пациентов не достигала уровня нефротической (30,77 (3,18; 108,57) мг/кг/сут), а уровень альбуминемии был выше, чем обычно наблюдается при НС (30,0 (22,0; 37,0) г/л). При этом уровень холестеринемии (7,1 (6,0; 10,7) ммоль/л) превышал нормальные значения, что характерно для изучаемой патологии.

Морфологические изменения, обнаруженные при световой и электронной микроскопии в клубочках при НМИ (слабовыраженная мезангиальная пролиферация, расширение мезангиального матрикса, «слияние» малых ножек, микроворсинчатая трансформация поверхности подоцитов), были характерны для НС с минимальными изменениями. В цитоплазме клеток канальцев наблюдалась умеренно выраженная гиалиново-капельная дистрофия. При статистическом анализе морфологических изменений была обнаружена прямая корреляционная связь между числом глобально склерозированных клубочков и выраженностью перигломерулярного ($r_s=0,41$, $p=0,005$), перитубулярного ($r_s=0,31$, $p=0,036$) и

периваскулярного фиброза ($r_s=0,62$, $p<0,001$). Выявлена прямая корреляционная связь между выраженностью перитубулярного фиброза и воспалительной инфильтрацией интерстиция ($r_s=0,62$, $p<0,001$). Обнаружено статистически значимое увеличение перитубулярного фиброза ($N=13,96$, $p<0,001$) у пациентов с резистентностью к ГКС терапии, что соответствует литературным данным.

Мезангиальная пролиферация была выявлена у 6 пациентов (1 мальчик, 5 девочек). У 3 больных наблюдалась чувствительность к терапии ГКС, у 2 – резистентность, у 1 – зависимость. В настоящее время нет чётких представлений о том, является ли этот вариант самостоятельной гломерулопатией или группой поражений с пока не выясненной этиологией.

В клубочках наблюдалась сегментарная или глобальная пролиферация мезангиоцитов от слабой до выраженной степени с расширением мезангиального матрикса. Изменения канальцев и стромы были сходны с таковыми при НМИ (умеренно выраженная полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация, очаговый кальциноз, фиброз от слабого до умеренного).

При статистическом анализе морфологических изменений была выявлена прямая корреляционная связь количества глобально склерозированных клубочков с выраженностью перитубулярного и периваскулярного фиброза, а также с выраженностью воспалительной инфильтрации стромы ($r_s=0,889$, $p=0,044$ для всех пар признаков). При анализе взаимных влияний клинических признаков и морфологических изменений не было обнаружено статистически достоверных корреляционных связей и значимых различий по разным группирующим признакам.

В группу с ФСГС вошли 13 пациентов. У 4 больных наблюдалась чувствительность к терапии ГКС, у 8 – резистентность, у 1 – зависимость. Частота ФСГС оказалась довольно высокой (20%), что, видимо, также связано с тем, что ФСГС чаще выявляется у пациентов со стероид-резистентностью, которым, как правило, показано проведение биопсии. В биопсийном почти во всех случаях в клубочках наблюдалась сегментарная и/или глобальная пролиферация мезангиоцитов от слабой до умеренной степени. В большинстве клубочков имелись утолщения БМ капилляров, в некоторых также удвоение. Во многих случаях отмечалась гломеруломегалия. Площадь среза клубочков статистически значимо была больше, чем при НМИ ($N=9,16$, $p=0,01$).

Склеротические изменения в клубочках наблюдались в разных их участках. В большинстве случаев склерозу подвергалась средняя часть клубочка на периферии капиллярного тельца – вариант ФСГС без

дополнительных уточнений (БДУ). Склероз верхушки клубочка характеризовался склеротическими изменениями в капиллярном тельце, формированием синехий с париетальным листком капсулы на канальцевом полюсе клубочка. Склероз рукоятки клубочка характеризовался наличием участков склероза и формированием синехий у места прохождения приносящей и выносящей артериол.

Изменения канальцев напоминали изменения при НМИ. В двух случаях в канальцах наблюдалась атрофия от слабой до умеренной степени. В просвете канальцев имелось рыхлое эозинофильное содержимое, при выраженной гематурии – эритроцитарные цилиндры.

В большинстве случаев поражения клубочков сопровождалось изменениями в строме (слабо и умеренно выраженная полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация, фиброз разной локализации, скопления пенистых клеток, кальциноз).

При ФСГС и в нескольких случаях НМИ наблюдались выраженные изменения подоцитов. Как при электронной, так и при световой микроскопии была заметная вакуолизация цитоплазмы подоцитов, их гипертрофия. Выраженность вакуолизации оказалась в обратной корреляционной связи с ПЭ нефрина и процентным содержанием подоцитов в клубочке ($r_s = -0,86$, $p < 0,001$ и $r_s = -0,66$, $p = 0,019$). Также выявлялись разной выраженности «слияние» малых ножек, микроворсинчатая трансформация поверхности клеток, наличие нескольких ядер. Обнаружена прямая корреляционная связь между выраженностью десквамации подоцитов с числом клубочков со склеротическими изменениями ($r_s = 0,67$, $p = 0,007$). Эти данные согласуются со сведениями в научной литературе о роли утраты подоцитов в развитии ФСГС и ряда других гломерулопатий.

Обнаружена прямая корреляционная связь между выраженностью перитубулярного фиброза и воспалительной инфильтрацией интерстиция ($r_s = 0,57$, $p = 0,04$), прямая корреляционная связь между выраженностью воспалительной инфильтрацией интерстиция и уровнем суточной протеинурии ($r_s = 0,66$, $p = 0,027$). Также обнаружено статистически значимое увеличение перитубулярного фиброза при протеинурии нефротического уровня (более 50 мг/кг/сут) ($U = 4,5$, $p = 0,034$).

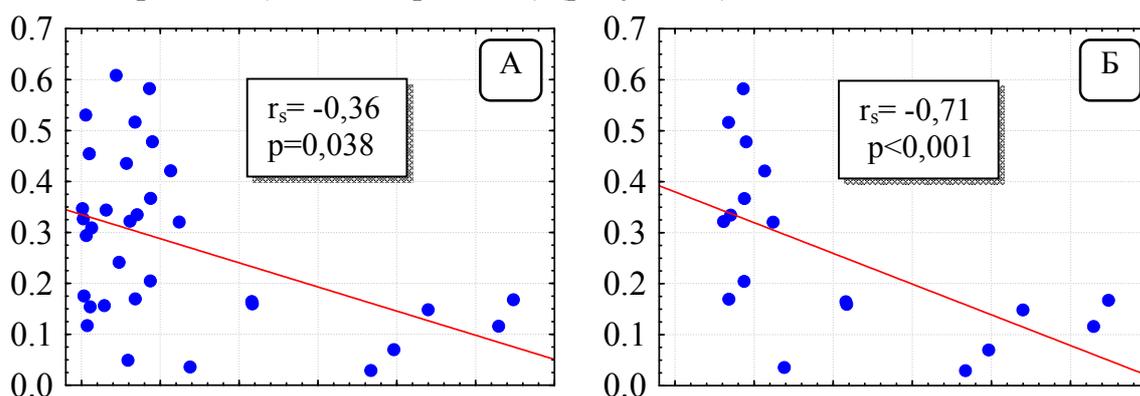
Иммуногистохимическое исследование было выполнено для изучения экспрессии белков нефрина, и подокаликсина. Нефрин – компонент щелевой диафрагмы подоцитов, которая считается главным барьером, обеспечивающим размер-селективную фильтрацию макромолекул. Подокаликсин входит в состав гликокаликса подоцитов и придаёт ему его отрицательный заряд, обеспечивая заряд-селективную фильтрацию. Оба белка связаны с цитоскелетом и поддерживают пространственную ориентацию подоцитов.

Повреждение этих белков может вести к слиянию малых ножек подоцитов и приводить к изменению структуры и функции этих клеток.

Экспрессия подокаликсина наблюдалась в подоцитах и эндотелиоцитах, а также в клетках париетального листка капсулы клубочков. Интенсивность окрашивания в исследуемой группе варьировала от слабой до выраженной, а в группе сравнения от умеренно выраженной до выраженной. Статистически значимые различия при сравнении уровней экспрессии были выявлены между группами НС и ИГ ($U=248,0$, $p<0,001$).

Экспрессия нефрина наблюдалась только в подоцитах клубочков. Интенсивность окрашивания в исследуемой группе варьировала от слабой до выраженной, а в группе сравнения от умеренно выраженной до выраженной. Окрашивание было в одних случаях линейным, а в других – гранулярным.

При анализе связи экспрессии нефрина с клиническими и лабораторными признаками была обнаружена обратная корреляционная связь средней силы между ПЭ нефрина и уровнем суточной протеинурии ($r_s = -0,36$, $p=0,038$). При уровне протеинурии более 30 г/кг/сут эта связь ещё более выражена ($r_s = -0,71$, $p<0,001$) (рисунок 1).



А – пациенты всей исследуемой группы; Б – пациенты исследуемой группы с уровнем протеинурии более 30 мг/кг/сут. По оси абсцисс – суточная протеинурия, мг/кг/сут, по оси ординат – ПЭ нефрина

Рисунок 1 – Связь ПЭ нефрина с уровнем суточной протеинурии при НС

При статистическом анализе были выявлены значимые различия между группами НС и ИГ по характеру экспрессии нефрина вдоль капиллярной стенки. У больных с НС чаще встречалось гранулярное окрашивание, а у пациентов группы сравнения – линейное ($\chi^2=6,65$, $p=0,001$). ПЭ нефрина при гранулярном окрашивании был статистически значимо ниже, чем при линейном ($U=178,0$, $p=0,014$).

Клинико-лабораторные проявления при НС были выражены значительно сильнее у тех пациентов, у которых наблюдалось гранулярное окрашивание. Так, уровни общего белка и альбумина у них были значимо ниже, а уровень

холестерина – выше ($U=21,5$, $p<0,001$; $U=40,5$, $p<0,001$; $U=31,0$, $p<0,001$ соответственно). Уровень суточной протеинурии у этих больных также был выше, но без статистической значимости ($U=68,0$, $p=0,062$).

Для объективного описания изменений в клубочках нами была разработана методика, основанная на количественной оценке компонентов клубочков. Методы оценки количественных изменений подоцитов, использующиеся рядом авторов, основаны на определении объёма капиллярного тельца, который приходится на один подоцит. При таком подходе точность измерений достаточно высока, но сами методы трудоёмки и требуют исследования большого количества ткани в каждом случае. Разработанная нами методика применима для оценки при рутинном исследовании биопсийного материала.

Между анализируемыми группами больных были получены статистически значимые различия по доле подоцитов от числа всех клеток ($t= -2,2$, $p=0,032$), плотности подоцитов ($t= -4,2$, $p<0,001$), числу подоцитов на один капилляр ($U=595,0$, $p=0,011$) и плотности капилляров в клубочке ($t= -2,2$, $p=0,028$).

При анализе связи морфометрических показателей с клинико-лабораторными данными были обнаружены статистически значимые различия по плотности подоцитов между больными с разным ответом на ГКС терапию ($N=12,49$, $p=0,002$) (рисунок 2).

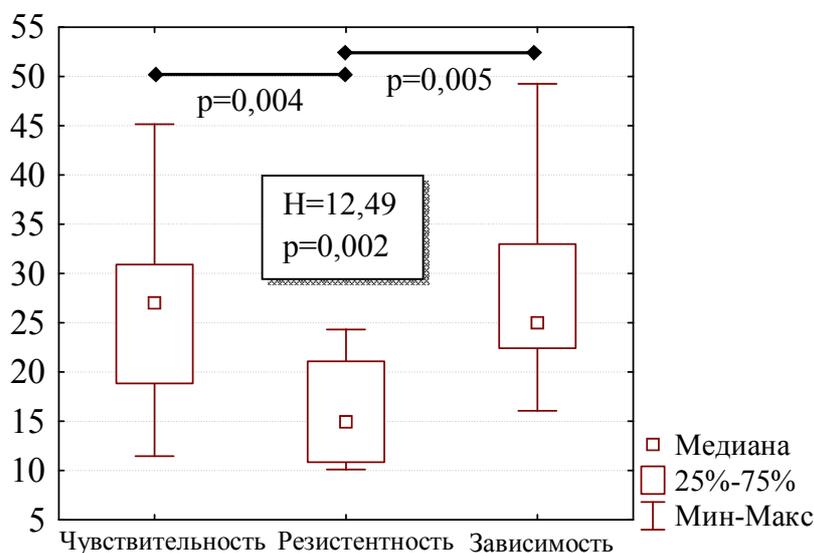


Рисунок 2 – Плотность подоцитов при разных ответах на ГКС терапию при НС

Плотность подоцитов была различной при разных гистологических вариантах НС ($N=15,3$, $p=0,003$) и уменьшалась в направлении НМИ – МзП – ФСГС. Статистически значимым оказалось снижение показателя при ФСГС по сравнению с НМИ ($p=0,0011$). Такие же закономерности были выявлены в

отношении доли подоцитов от числа всех клеток клубочка ($N=12,9$, $p=0,002$). При этом также наблюдалось уменьшение показателя в направлении НМИ – МзП – ФСГС со статистически значимым снижением при ФСГС по сравнению с НМИ ($p=0,003$). По остальным показателям морфологические варианты значимых различий не имели. В группе НС наблюдалась прямая корреляция умеренной силы плотности подоцитов и плотности капилляров ($r_s=0,51$, $p<0,001$). В группе сравнения такой связи выявлено не было.

Доля подоцитов от числа всех клеток, а также плотность подоцитов, находились в слабой обратной корреляционной связи с числом клубочков со склеротическими изменениями в верхушке и около сосудистого полюса (r_s от $-0,32$ до $-0,29$, $p<0,05$ для всех пар признаков).

При электронной микроскопии биоптатов ультраструктурные изменения преимущественно касались подоцитов и их отростков. Наиболее часто в препаратах выявлялось расширение малых ножек подоцитов – феномен «слияния» или «распластывания» малых ножек. Выявлена прямая корреляционная связь средней силы между выраженностью феномена «слияния» малых ножек и интенсивностью ИГХ окрашивания к подокаликсину ($r_s=0,58$, $p=0,036$).

В участках без «слияния» малых ножек производилось измерение их средней ширины. Медиана показателя составила 514 (386; 553) нм при НС, а в группе сравнения – 259 (184; 457) нм. Выявлены статистически значимые различия по средней ширине малых ножек между группой НС и группой сравнения ($U=380,0$, $p=0,046$). Мы не обнаружили статистически достоверных корреляционных связей данного показателя с клиническими признаками, однако были выявлены статистически значимые различия между пациентами с разными уровнями протеинурии (выше и ниже 50 мг/кг/сут) ($U=456,0$, $p=0,04$).

Наиболее значимой для прогноза заболевания клинической характеристикой НС является ответ на ГКС терапию. Нами был проведён статистический анализ полученных данных для определения возможности их использования для прогнозирования наступления стероид-резистентности. Для удобства проведения анализа пациенты с чувствительностью и зависимостью от ГКС были объединены в одну группу (стероид-чувствительные), которую сравнивали с группой стероид-резистентных пациентов.

Для оценки клинического значения ИГХ маркеров и рассчитанных морфометрических показателей была построена регрессионная модель выживаемости (регрессионная модель для цензурированных данных). Зависимым (прогнозируемым) признаком в модели был выбран ответ на ГКС терапию. Прогнозируемым значением признака была выбрана

резистентность к ГКС терапии. Изучаемыми признаками (прогностическим факторами) были выбраны ПЭ и ПИ нефрина и подокаликсина и плотность подоцитов, как характеризующие изменения эпителиальных клеток клубочка. Для всей модели было получено значение $\chi^2=15,64$ и $p=0,008$. Из всех анализируемых признаков только для плотности подоцитов уровень статистической значимости оказался меньше принятого ($p<0,05$). Следовательно, плотность подоцитов ассоциирована со временем до наступления резистентности к ГКС терапии, и этот показатель может быть применён для прогнозирования наступления стероид-резистентности.

Для оценки точности диагностического метода были рассчитаны его чувствительность и специфичность, и построена ROC-кривая для группы НС.

Наиболее удалённой от нулевой прямой оказалась точка ROC-кривой, в которой диагностическая чувствительность была равна 83,8%, специфичность – 71,1%, плотность подоцитов – 21,65 клеток на 10000 мкм². Это значение показателя было принято в качестве точки отсечения, которая разделила выборку на случаи с высокой и низкой плотностью подоцитов.

Для выяснения влияния плотности подоцитов на время до наступления стероид-резистентности был проведён анализ выживаемости по методу Каплана–Майера с сопоставлением групп больных – тест Гехана–Уилкоксона. Для теста было получено значение $p=0,008$, т. е. были обнаружены статистически значимые различия между группами больных с высокой и низкой плотностью подоцитов по времени до наступления стероид-резистентности. Результаты теста представлены на рисунке 3.

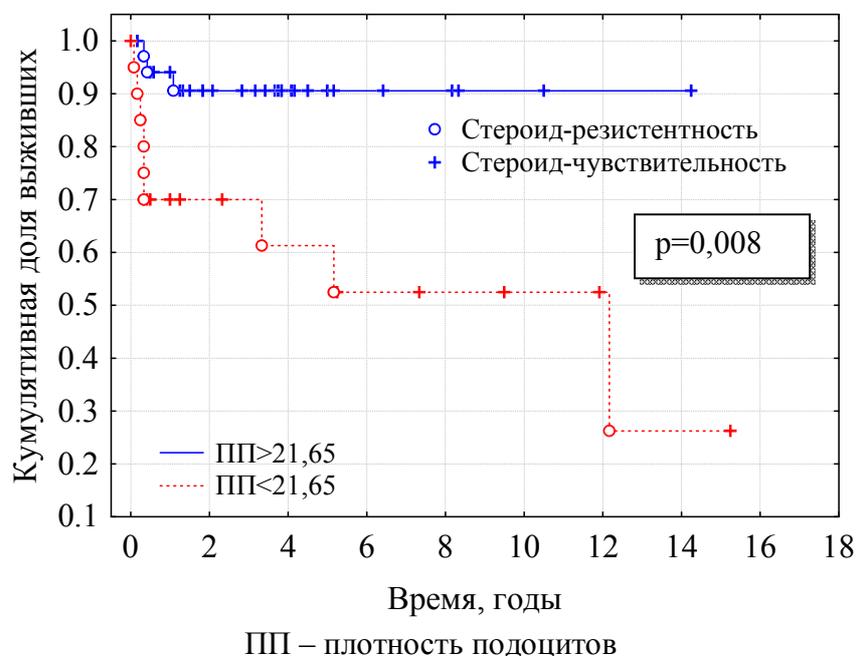


Рисунок 3 – Анализ влияния плотности подоцитов на время до наступления стероид-резистентности

Кривые выживаемости на рисунке демонстрируют, что стероид-резистентность у пациентов с низкой плотностью подоцитов чаще всего развивалась в дебюте заболевания и наступала чаще, чем у пациентов с высокой плотностью подоцитов. Из остальных клинических и морфологических признаков значимым для прогноза оказались пол пациентов и морфологический вариант. Установлено, что стероид-резистентность значимо раньше наступает у девочек ($p=0,011$) и при наличии ФСГС ($p=0,003$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. В материале пункционных нефробиопсий детей и подростков наблюдались следующие морфологические варианты: нефропатия минимальных изменений (70,8%), фокально-сегментарный гломерулосклероз (20%), мезангиальная пролиферация (9,2%). При ФСГС был выявлен изолированный склероз верхушки (7,7%), склероз рукоятки (7,7%) и ФСГС без дополнительных уточнений (84,6%) [5].

2. ФСГС манифестирует позже других вариантов ($N=8,58$, $p=0,014$), протекает с более выраженными клинико-лабораторными (выше уровень креатинина сыворотки ($N=11,97$, $p=0,003$), высокая лейкоцитурия ($N=9,2$, $p=0,01$) и гематурия ($N=12,3$, $p=0,002$)) и морфологическими изменениями в интерстиции (перигломерулярный фиброз ($N=8,2$, $p=0,017$) и воспалительная инфильтрация ($N=14,3$, $p<0,001$)) и чаще проявляется стероид-резистентным НС ($\chi^2=14,46$, $p=0,006$) [7].

3. Установлено снижение экспрессии подокаликсина при НС ($U=248,0$, $p<0,001$). Впервые выявлена прямая корреляционная связь между выраженностью феномена «слияния» малых ножек и показателем интенсивности ИГХ окрашивания к подокаликсину ($r_s=0,58$, $p=0,036$), что указывает на роль снижения отрицательного заряда подоцитов в генезе протеинурии и развитии ультраструктурных изменений подоцитов [2, 4, 6, 14].

4. У пациентов с НС выявлено снижение экспрессии ($U=290,0$, $p=0,042$) и перераспределение нефрина в клубочках с наличием гранулярного окрашивания ($\chi^2=6,65$, $p=0,001$). При гранулярном окрашивании клинико-лабораторные проявления заболевания были выражены значительнее: ниже уровни общего белка ($U=21,5$, $p<0,001$) и альбумина ($U=40,5$, $p<0,001$), выше уровень холестерина ($U=31,0$, $p<0,001$). Впервые при НС обнаружена обратная корреляционная связь между показателем экспрессии нефрина и уровнем суточной протеинурии ($r_s= -0,36$; $p=0,038$). Максимальная сила связи наблюдалась при уровне протеинурии более 30 мг/кг/сут ($r_s= -0,71$,

$p < 0,001$). Эти данные свидетельствуют об участии нефрина в развитии ненаследственных форм НС [4, 14].

5. Установлено снижение количества подоцитов в клубочках при НС ($t = -4,2$, $p < 0,001$), максимально выраженное при ФСГС ($N = 15,3$, $p = 0,003$) и при наличии стероид-резистентности ($N = 12,49$, $p = 0,002$). Выраженность десквамации подоцитов при электронной микроскопии коррелировала с числом клубочков со склеротическими изменениями ($r_s = 0,67$, $p = 0,007$). Ультраструктурные изменения (вакуолизация цитоплазмы подоцитов) находились в обратной корреляционной связи с показателем экспрессии нефрина ($r_s = -0,86$, $p < 0,001$) и процентным содержанием подоцитов в клубочке ($r_s = -0,66$, $p = 0,019$). Выявленные закономерности показывают, что уменьшение числа подоцитов сопровождается их ультраструктурными повреждениями и развитием склеротических изменений в клубочках [3, 8, 9, 10, 12, 13].

6. С помощью регрессионной модели выживаемости, построенной для разных клинических и морфологических признаков, выявлен предиктор развития стероид-резистентности у пациентов с НС – снижение плотности подоцитов ниже 21,65 клеток на 10000 $\mu\text{м}^2$ (диагностическая чувствительность 83,8%, специфичность 71,1%, $p = 0,008$). Также неблагоприятными прогностическими факторами являются гистологические изменения в виде ФСГС ($p = 0,003$) и женский пол пациентов ($p = 0,011$) [5].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Наличие у пациентов клинико-лабораторных признаков нефротического синдрома в сочетании с выраженной гематурией и лейкоцитурией могут считаться прямым показанием к проведению нефробиопсии, т. к. чаще всего наблюдаются при ФСГС.

2. Предложенная методика морфометрической оценки количественных изменений компонентов клубочков рекомендуется к использованию для объективного описания изменений в клубочках при различных формах гломерулопатий.

3. Определение плотности подоцитов в клубочках позволяет с высокой степенью вероятности предположить у пациента с нефротическим синдромом наличие или отсутствие резистентности к глюкокортикостероидным препаратам. Применение данной методики даёт возможность предсказать развитие стероид-резистентности на ранних этапах развития заболевания и рационально выбирать методы иммуносупрессивной терапии.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в журналах

1. Сахаров, И.В. Молекулярные маркеры в диагностике стероид-резистентного нефротического синдрома / И.В. Сахаров, Е.Д. Черствый // Медицинские новости. – 2010. – № 8. – С. 10–14.
2. Сахаров, И.В. Экспрессия подокаликсина в клубочках почки при нефротическом синдроме у детей / И.В. Сахаров, А.В. Сукало, Е.Д. Черствый // Здравоохранение. – 2011. – № 3. – С. 4–8.
3. Количественные изменения компонентов клубочков почки при первичном нефротическом синдроме у детей / И.В. Сахаров [и др.] // Репродуктивное здоровье в Беларуси. – 2011. – № 4. – С. 79–90.
4. Сахаров, И.В. Экспрессия нефрина и подокаликсина в клубочках почки при нефротическом синдроме у детей и её связь с развитием протеинурии / И.В. Сахаров // Здравоохранение. – 2012. – № 6. – С. 4–8.
5. Возможность прогнозирования ответа на глюкокортикостероидную терапию у детей с нефротическим синдромом с использованием морфологических и иммуногистохимических маркеров / И. В. Сахаров [и др.] // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2012. – № 4. – С. 60–69.

Статьи в сборниках научных трудов

6. Сахаров, И.В. Характеристика экспрессии подокаликсина в клубочках почки при нефротическом синдроме у детей / И.В. Сахаров // Актуальные вопросы морфологической диагностики заболеваний: материалы Республиканской научно-практической конференции, Витебск, 30 сентября – 1 октября 2010 г. / Витебский гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2010. – С. 174–177.
7. Клинико-морфологические особенности нефротического синдрома у детей Республики Беларусь / Т.А. Летковская [и др.] // Актуальные проблемы патологической анатомии: материалы Республиканской научно-практической конференции, Гродно, 26 ноября 2010 г. / Гродненский гос. мед. ун-т; редкол.: В.А. Снежицкий [и др.]. – Гродно, 2010. – С. 72–75.
8. Сахаров, И.В. Морфометрическая оценка компонентов клубочков почки при первичном нефротическом синдроме / И.В. Сахаров, Е.Д. Черствый, Т.А. Летковская // Проблемы патоморфологической диагностики современных инфекций и других заболеваний: сборник научных статей II съезда патологоанатомов Республики Беларусь, Гомель, 26–27 мая 2011 г. / РНПЦ радиационной медицины и экологии человека, Гомельский гос. мед. ун-т; редкол.: А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2011. – С. 211–214.

9. Корреляционный анализ морфометрических и клинико-лабораторных показателей при нефротическом синдроме у детей / И.В. Сахаров [и др.] // Труды молодых ученых 2011: сборник научных работ / Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. А.В. Сикорского. – Минск, 2011. – С. 139–143.

10. Количественные изменения подоцитов при нефротическом синдроме у детей в материале пункционных биопсий / Е.Д. Черствый [и др.] // БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики: сборник научных трудов / Белорус. гос. мед. ун-т; редкол.: А.В. Сикорский [и др.]. – Минск: ГУ РНМБ, 2011. – Т. 2. – С. 61–62.

11. Электронная микроскопия в диагностике заболеваний почек у детей / И.В. Сахаров [и др.] // Актуальные проблемы медицины: сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции, Гомель, 24–25 февраля 2011 г. / Гомельский гос. мед. ун-т; редкол.: А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2011. – С. 3–5.

Тезисы

12. Sakharau, I.V. Method of Quantitative Assessment of IHC Staining in Kidney Glomeruli / I.V. Sakharau, N.I. Tur // *Pediatric Nephrology*. – 2010. – Vol. 25. – № 9. – P. 1885.

13. Quantitative assessment of glomerular tuft changes in nephrotic syndrome in children / I. Sakharau [et al.] // *Pediatric Nephrology*. – 2011. – Vol. 26. – № 9. – P. 1663.

14. Reduction of podocytes number in primary nephrotic syndrome in children / I. Sakharau [et al.] // *Virchows Archiv*. – 2011. – Vol. 459, Supp. 1. – P. S260.

15. Expression of nephrin and podocalyxin in kidney glomeruli in children with nephrotic syndrome and its association with development of proteinuria / I. Sakharau [et al.] // *Pediatric Nephrology*. – 2012. – Vol. 27. – № 9. – P. 1705.

Рационализаторское предложение

16. Методика количественной оценки компонентов клубочков почки в материале пункционных нефробиопсий: рационализаторское предложение № 10 от 27.02.2012 / Е.Д. Черствый, И.В. Сахаров, Т.А. Летковская.

РЭЗЮМЭ

Сахараў Іван Уладзіміравіч

Клініка-марфалагічная характарыстыка нефратычнага сіндрому ў дзяцей і падлеткаў

Ключавыя словы: нефратычны сіндром, пратэінурыя, глюкокортыкастэроіды, рэзістэнтнасць, падацыты, нефрын, падакаліксін.

Мэта даследавання: выявіць сувязі паміж клінічнымі прыкметамі і марфалагічнымі зменамі ў нырцы для прагназавання рэзістэнтнасці да глюкокортыкастэроідных прэпаратаў і паляпшэння якасці лячэння пры нефратычным сіндроме ў дзяцей і падлеткаў.

Метады даследавання: гісталагічны, імунагістахімічны, электронна-мікраскапічны, марфаметрычны, статыстычны.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Найбольш цяжкія клінічныя праявы назіраюцца ў пацыентаў з факальна-сегментарным гламеруласклерозам. Устаноўлена зніжэнне экспрэсіі падакаліксіну, упершыню выяўлена карэляцыйная сувязь паміж выяўленасцю феномену «зліцця» малых ножак і экспрэсіяй падакаліксіну. Устаноўлена зніжэнне экспрэсіі і пераразмеркаванне нефрыну ў клубочках з наяўнасцю гранулярнай афарбоўкі. Упершыню выяўлена адваротная карэляцыйная сувязь паміж экспрэсіяй нефрыну і ўзроўнем сутачнай пратэінурыі пры нефратычным сіндроме. Устаноўлена зніжэнне колькасці падацытаў у клубочках пры нефратычным сіндроме, максімальна выяўленае пры факальна-сегментарным гламеруласклерозе і пры наяўнасці стэроід-рэзістэнтнасці. Выяўлены прэдыктары развіцця стэроід-рэзістэнтнасці – зніжэнне шчыльнасці падацытаў ніжэй за 21,65 клетак на 10000 мкм², жаночы пол пацыентаў і гісталагічныя змяненні ў выглядзе факальна-сегментарнага гламеруласклероза.

Ступень выкарыстання атрыманых вынікаў. Удакладнены паказанні да нефрабіяпсіі ў пацыентаў з нефратычным сіндромам. Прапанаваная метадыка марфаметрычнай ацэнкі колькасных змяненняў кампанентаў клубочкаў можа быць выкарыстана для аб'ектыўнага апісання змяненняў у клубочках пры розных формах гламерулапатый. Вызначэнне шчыльнасці падацытаў ў клубочках дазваляе з высокай ступенню верагоднасці выказаць здагадку наконт наяўнасці рэзістэнтнасці да глюкокортыкастэроідных прэпаратаў ў пацыента з нефратычным сіндромам.

Вобласць прымянення: паталагічная анатомія, педыятрыя, нефралогія.

РЕЗЮМЕ

Сахаров Иван Владимирович

Клинико-морфологическая характеристика нефротического синдрома у детей и подростков

Ключевые слова: нефротический синдром, протеинурия, глюкокортикостероиды, резистентность, подоциты, нефрин, подокаликсин.

Цель исследования: выявить связи между клиническими признаками и морфологическими изменениями в почке для прогнозирования резистентности к глюкокортикостероидным препаратам и улучшения качества лечения при нефротическом синдроме у детей и подростков.

Методы исследования: гистологический, иммуногистохимический, электронно-микроскопический, морфометрический, статистический.

Полученные результаты и их новизна. Наиболее тяжелые клинические проявления наблюдаются у пациентов с фокально-сегментарным гломерулосклерозом. Установлено снижение экспрессии подокаликсина, впервые выявлена корреляционная связь между выраженностью феномена «слияния» малых ножек и экспрессией подокаликсина. Установлено снижение экспрессии и перераспределение нефрина в клубочках с наличием гранулярного окрашивания. Впервые обнаружена обратная корреляционная связь между экспрессией нефрина и уровнем суточной протеинурии при нефротическом синдроме. Установлено снижение количества подоцитов в клубочках при нефротическом синдроме, максимально выраженное при фокально-сегментарном гломерулосклерозе и при наличии стероид-резистентности. Выявлены предикторы развития стероид-резистентности – снижение плотности подоцитов ниже 21,65 клеток на 10000 мкм², женский пол пациентов и гистологические изменения в виде фокально-сегментарного гломерулосклероза.

Степень использования полученных результатов. Уточнены показания к нефробиопсии у пациентов с нефротическим синдромом. Предложенная методика морфометрической оценки количественных изменений компонентов клубочков может быть использована для объективного описания изменений в клубочках при различных формах гломерулопатий. Определение плотности подоцитов в клубочках позволяет с высокой степенью вероятности предположить у пациента с нефротическим синдромом наличие резистентности к глюкокортикостероидным препаратам.

Область применения: патологическая анатомия, педиатрия, нефрология.

SUMMARY

Ivan Sakharau

Clinical and morphological characteristics of nephrotic syndrome in children and adolescents

Keywords: nephrotic syndrome, proteinuria, steroids, resistance, podocytes, nephrin, podocalyxin.

Objective: to find associations between clinical symptoms and morphological changes in kidney for steroid-resistance prediction and therapy improvement in nephrotic syndrome in children and adolescents.

Methods: light and electron microscopy, immunohistochemical staining, morphometry, statistical analysis.

Results. The most severe clinical manifestations were seen in patients with focal segmental glomerulosclerosis. Expression of podocalyxin was decreased and correlated with foot processes effacement. Expression of nephrin was decreased and showed granular staining pattern. We found inverse correlation between expression of nephrin and daily proteinuria level in the nephrotic syndrome. A reduction of glomerular podocytes number was the highest in focal segmental glomerulosclerosis and in steroid resistant patients. Podocyte density below 21.65 cells per 10,000 mkm^2 as well as focal segmental glomerulosclerosis and female sex were found to be of predictive value for steroid resistance.

Recommendation for usage. Assesment of glomerular podocytes density allows to prognose steroid resistance in patients with nephrotic syndrome. This technique makes it possible to predict the course of the disease in the early stages and rationalize methods of immunosuppressive therapy.

Area of application: pathology, pediatrics, nephrology.

Подписано в печать 04.02.13. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Zoom».

Печать ризографическая. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 1,16. Уч.-изд. л. 1,25. Тираж 60 экз. Заказ 76.

Издатель и полиграфическое исполнение:

учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».

ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.