

Роль катионных каналов потенциального рецептора TRPC в патогенезе идиопатического нефротического синдрома у детей

С.Л. Морозов^{1,2}, В.В. Длин¹

¹ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

The role of cationic channels of the potential TRPC receptor in the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome in children

S.L. Morozov^{1,2}, V.V. Dlin¹

¹Veltitshev Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Идиопатический нефротический синдром — наиболее частая гломерулопатия в детском возрасте, распространенность которой составляет примерно 16 на 100 тыс. детского населения во всем мире. Любое хроническое гломерулярное заболевание имеет в своем роде однотипный механизм развития. Независимо от повреждающего фактора после гибели значительной части нефронов происходит устойчивое снижение скорости клубочковой фильтрации, при этом морфологически чаще всего определяется фокальный сегментарный гломерулосклероз. Изучение причин формирования фокального сегментарного гломерулосклероза составляет актуальную проблему в педиатрической нефрологии. В последнее время обсуждается роль катионных каналов потенциального рецептора TRPC подоцитов в развитии протеинурии и фокального сегментарного гломерулосклероза. В статье приводятся данные о роли рецепторов TRPC в патогенезе фокального сегментарного гломерулосклероза. Приводятся собственные данные, которые демонстрируют экспрессию генов семейства катионных каналов потенциального рецептора *TRPC1*, *TRPC3*, *TRPC4*, *TRPC5* и *TRPC6* у детей с идиопатическим нефротическим синдромом в зависимости от морфологической картины заболевания и чувствительности к стероидной терапии.

Ключевые слова: дети, нефротический синдром, фокальный сегментарный гломерулосклероз, экспрессия, рецептор TRPC.

Для цитирования: Морозов С.Л., Длин В.В. Роль катионных каналов потенциального рецептора TRPC в патогенезе идиопатического нефротического синдрома детей. Рос вестн перинатол и педиатр 2021; 66:(5): 67–74. DOI: 10.21508/1027-4065-2021-66-5-67-74

Idiopathic nephrotic syndrome is the most common glomerulopathy in children, with a prevalence of approximately 16 per 100,000 of child population worldwide. Any chronic glomerular disease has the same type of development mechanism. Regardless of the damaging factor, after the death of a significant part of the nephrons, there occurs a steady decrease in the glomerular filtration rate, while morphologically we most often determine focal segmental glomerulosclerosis. Studying the causes of focal segmental glomerulosclerosis is an urgent problem in pediatric nephrology. Recently, there has been discussed the role of the cation channels of the potential receptor TRPC of podocytes in the development of proteinuria and focal segmental glomerulosclerosis. The article provides data on the role of TRPC receptors in the pathogenesis of focal segmental glomerulosclerosis. The authors present their own data demonstrating gene expression of the cationic channels family of the potential receptor *TRPC1*, *TRPC3*, *TRPC4*, *TRPC5* and *TRPC6* in children with idiopathic nephrotic syndrome, depending on the morphological picture of the disease and sensitivity to steroid therapy.

Key words: children, nephrotic syndrome, focal segmental glomerulosclerosis, expression, TRPC receptor.

For citation: Morozov S.L., Dlin V.V. The role of cationic channels of the potential TRPC receptor in the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome in children. Ros Vestn Perinatol i Peditr 2021; 66:(5): 67–74 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2021-66-5-67-74

Идиопатический нефротический синдром — наиболее частая гломерулопатия в детском воз-

расте, распространенность которой составляет примерно 16 на 100 тыс. детского населения во всем мире [1]. Кроме того, нефротический синдром занимает второе место после врожденных аномалий почек и мочевыводящих путей по роли в формировании хронической болезни почек, которая зачастую носит прогрессирующий характер, приводя к терминальной стадии хронической почечной недостаточности [2].

Несмотря на все достижения современной медицины, наличие методов лечения, позволяющих замедлить скорость прогрессирования заболевания, хроническая болезнь почек остается серьезной проблемой во всем мире. Даже в случае успешного лечения заболевание у многих пациентов прогрессирует до поздних стадий хронической почечной недоста-

© Морозов С.Л., Длин В.В., 2021

Адрес для корреспонденции: Морозов Сергей Леонидович — к.м.н., ст. науч. сотр. отдела наследственных и приобретенных болезней почек им. профессора М.С. Игнатовой Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева, доц. кафедры госпитальной педиатрии №2 педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, ORCID: 0000-0002-0942-0103
e-mail: mser@list.ru

Длин Владимир Викторович — д.м.н., проф., рук. отдела наследственных и приобретенных болезней почек им. профессора М.С. Игнатовой, дир. Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0002-0942-0103/0000-0002-3050-7748
125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

точности. Так, заболеваемость хронической болезнью почек III и IV стадии у детей в Европе составляет 11–12 случаев на 1 млн детского населения [3]. Таким образом, нерешенная проблема прогрессирования хронической болезни почек ставит новые задачи по разработке инновационных подходов к лечению.

Любое хроническое гломерулярное заболевание имеет в своем роде однотипный механизм развития. Независимо от повреждающего фактора после гибели значительной части нефронов происходит устойчивое снижение скорости клубочковой фильтрации, при этом морфологически чаще всего определяется фокальный сегментарный гломерулосклероз [4]. Одно из ключевых звеньев в формировании фокального сегментарного гломерулосклероза — поражение подоцитов клубочка.

Подоциты — это высокодифференцированные постмитотические клетки, которые играют решающую роль в обеспечении фильтрационного барьера [4]. На рис. 1 представлена ультраструктура клубочка. Базальную мембрану (1) клубочка покрывают специальные отростки (2) — ножки подоцита, образуя специфические межклеточные контакты (3), так называемую щелевую диафрагму. Основная функция щелевой диафрагмы гломерулярной базальной мембраны состоит в образовании ультрафильтрата, предотвращая потерю макромолекул. Гломерулярная базальная мембрана имеет сложное строение. Она состоит из многих компонентов, таких как Р-кадгерин, *zonula occludens* (комплекс контактов между клетками, в который входят адгезионные контакты и десмосомы), члены семейства катенинов, а также специфические белки, экспрессируемые в ножках подоцитов — нефрин и подоцин. Нефрин — один из членов суперсемейства иммуноглобулинов G, который агрегирует на окружающих капиллярах клубочка, образуя фильтрационный барьер в виде своеобразной сети. Кроме того, нефрин имеет трансмембранный домен, который служит кар-

касом для сборки сигнальных комплексов с другими белками подоцитов — CD2-ассоциированный белок и подоцин. Помимо формирования фильтрационного барьера, белки гломерулярной базальной мембраны стабилизируют архитектуру клубочков, препятствуя высокому гидростатическому давлению в капиллярах клубочка, и ответственны примерно за 40% гидравлического сопротивления фильтрационного барьера [5–6]. Известно, что плотные межклеточные контакты между ножками подоцитов и гломерулярной базальной мембраной способствуют поддержанию клубочковой фильтрации. Такое взаимодействие способствует адаптации подоцитов к скорости клубочковой фильтрации или к внутриклубочковому давлению, а нарушение этих взаимосвязей (сигнальных путей) приводит к потере функции фильтрационного барьера, вызывая протеинурию. По мере прогрессирования заболевания подоциты теряют связь с гломерулярной базальной мембраной в результате снижения клеточной адгезии либо за счет непосредственной гибели клеток, что приводит к формированию нефросклероза. Наиболее ранние изменения повреждения подоцита определяются при электронной микроскопии и визуально оцениваются как распластывание ножек подоцита. Этот процесс осуществляется за счет перестройки актинового цитоскелета, перераспределения актиновых микрофиламентов, в результате которого отростки подоцитов теряют свою форму. Изменения в подоцитах носят необратимый характер (рис. 2) [7].

Как отмечалось ранее, после гибели значительной части нефронов происходит устойчивое снижение скорости клубочковой фильтрации, при этом морфологически чаще всего определяется фокальный сегментарный гломерулосклероз. Изучение причин формирования фокального сегментарного гломерулосклероза составляет актуальную проблему в педиатрической нефрологии. Одной из ведущих причин раз-

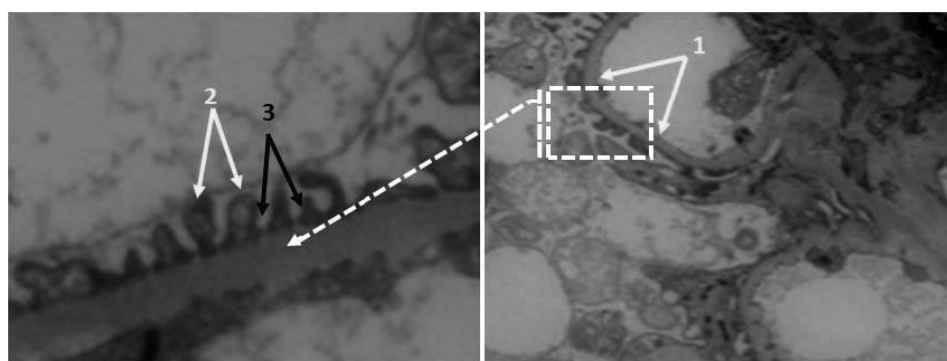


Рис. 1. Ультраструктура клубочка (собственное наблюдение).

1 — базальная гломерулярная мембрана; 2 — ножки подоцита; 3 — фильтрационные щели «щелевая диафрагма».

Fig. 1. Glomeruli ultrastructure (own observation).

1 — basal glomerular membrane; 2 — podocyte legs; 3 — filtration slots “slit diaphragm”.

вития фокального сегментарного гломерулосклероза считаются генетические факторы, которые определяются мутациями в одном из 40 известных в настоящее время генов, имеющих связь с развитием заболевания [8]. В последнее время обсуждается роль катионных каналов потенциального рецептора TRPC подоцитов в развитии протеинурии и фокального сегментарного гломерулосклероза.

Катионные каналы рецептора TRPC относятся к членам большого семейства TRP (transient receptor potential — неселективные катионные каналы), впервые обнаруженные M. Gees и соавт. [9] (2010) у черной дрозофилы. Как показано на рис. 2, семейство генов *TRP* состоит из 7 членов, которые разделяются на группы: *TRPC1*, *TRPC5*, *TRPC4* и *TRPC5*, *TRPC3*, *TRPC7*. У человека *TRPC2* является псевдогеном.

Ионные каналы TRPC обеспечивают проницаемость клетки (подоцита) для кальция после их индукции вторичными мессенджерами (диацилглицерин и инозитол-1,4,5-трифосфат), активированными фосфолипазой C [10]. Помимо представленного механизма активации рецепторов, существуют и альтернативные механизмы, например механическая стимуляция (растяжение) или окислительный стресс, приводящие к активации рецепторов *TRPC5* и *TRPC6* в подоцитах гломерулы [11]. Помимо окислительного стресса, активация *TRPC6* осуществляется ангиотензином II и проницаемыми для клеток аналогами диацилглицерина, которые ингибируются блокаторами активных форм кислорода, или фармакологическим ингибированием NOX2 (NADPH-оксидазы-2 — клеточный мембраносвязанный мультимолекулярный ферментный комплекс, локализующийся на плазматической

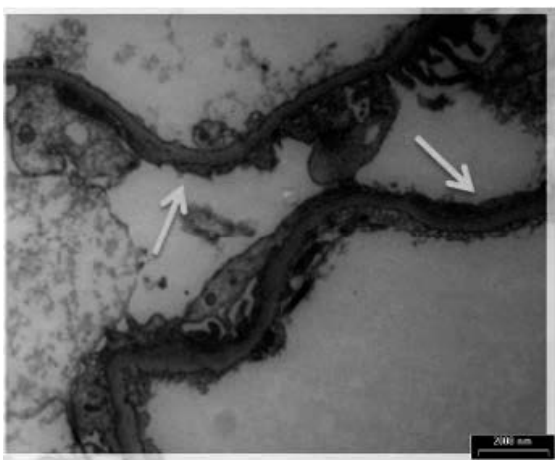


Рис. 2. Ультраструктура клубочка у ребенка с фокальным сегментарным гломерулосклерозом (собственное наблюдение). Стрелками отмечено распластывание (нарушение структуры) ножек подоцитов.

Fig. 2. Ultrastructure of the glomerulus of the glomerulus in a child with focal segmental glomerulosclerosis (own observation). The arrows mark the spread (structural disturbance) of the podocyte legs.

мембране). Кроме того, отмечено, что преципитаты (белковые комплексы) *TRPC6*-NOX2 находятся в структуре подоцита [12].

Впервые роль катионных рецепторов семейства TRPC в развитии гломерулярных заболеваний описана в 2005 г. M.P. Winn и соавт. [13], когда у пациента с семейным вариантом фокального сегментарного гломерулосклероза была выявлена точечная мутация в гене *TRPC6*. В дальнейшем J. Reiser и соавт. [14] (2005) описали пять семей с аутосомно-доминантным вариантом фокально-сегментарного гломерулосклероза, ассоциированного с мутацией в гене *TRPC6*. При более детальном изучении с помощью иммунной электронной микроскопии оказалось, что рецепторы *TRPC6* определяются в теле ножек подоцитов, прилегающих к базальной щелевидной мембране. Кроме того, доказана ко-иммунопреципитация *TRPC6*с белками подоцита — нефрином и подоцином с образованием своеобразного сигнального комплекса (*TRPC6*+щелевидная мембрана) [15]. Помимо структурной функции катионные каналы потенциального рецептора *TRPC6* осуществляют регуляцию уровня кальция, участвуя в работе сократительного аппарата ножек подоцитов и выполняя роль механорецептора, который влияет на активность сигнального комплекса — (нефрин + подоцин + щелевидная мембрана + ножки подоцитов) [15].

Изучение мутаций гена *TRPC6* позволило окончательно установить его роль при поражении гломерул. Так, большинство мутаций, вызывающих фокально-сегментарный гломерулосклероз, способствуют усилению функции катионных каналов [16, 17]. Полученные данные свидетельствуют, что чрезмерные уровни внутриклеточного кальция вносят вклад в патофизиологию у этих пациентов, а изучение клинико-генетических корреляций позволило установить, что у пациентов с большим количеством ионных каналов имеются раннее развитие фокального сегментарного гломерулосклероза и агрессив-

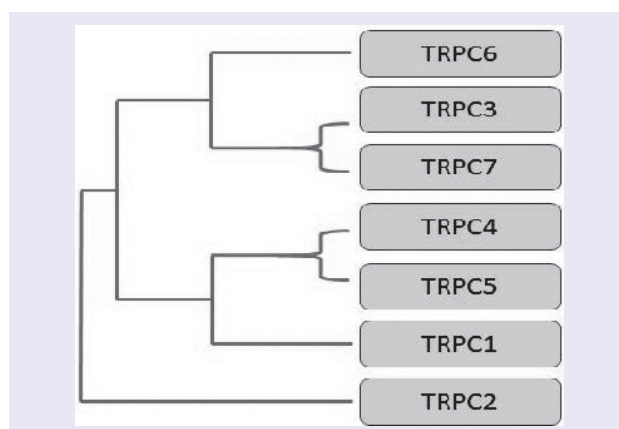


Рис. 3. Филогенетическое дерево членов семейства неселективных катионных каналов *TRP* [10].

Fig. 3. Phylogenetic tree of members of the *TRP* family of non-selective cationic channels.

ное течение нефротического синдрома. Данный механизм патогенеза был показан L. Wang и соавт. [18, 19] (2015) на биологических моделях трансгенных мышей с активированными катионными каналами потенциального рецептора TRPC6.

В большинстве случаев гломерулопатии не имеют генетической природы, а ассоциируются либо с вторичными поражениями почек (например, при системной красной волчанке, системных васкулитах), либо являются первичными (идиопатический нефротический синдром, мембранозная нефропатия, болезнь минимальных изменений, несемейные варианты фокально-сегментарного гломерулосклероза). Роль TRPC6 при первичной патологии клубочков впервые представлена группой исследователей в 2009 г. Они продемонстрировали активацию катионных каналов потенциального рецептора TRPC6 на изолированных клубочках биоптатов почек пациентов с «болезнью минимальных изменений», мембранозной нефропатией и фокальным сегментарным гломерулосклерозом [20, 21]. Высокая экспрессия ионных каналов TRPC6 при гломерулярных заболеваниях приводит к развитию фокального сегментарного гломерулосклероза, как и при мутациях гена *TRPC6*, т.е. к повышению внутриклеточного кальция, что способствует развитию протеинурии и формированию гломерулосклероза [22].

Молекулярные механизмы, регулирующие экспрессию TRPC6, представлены своеобразной положительной обратной связью (рис. 4). Рецепторы, связанные с фосфолипазой C, такие как GPCR (G-protein-coupled receptors) для ангиотензина II или эндотелина-1, активируют катионные каналы TRPC6, что приводит к проникновению кальция в клетку. В свою очередь кальций стимулирует кальциневрин и чувствительную к кальцию фосфатазу [23]. К важным продуктам кальциневрина относится ядерный фактор активированных Т-клеток — NFAT, который при активации кальциневрина подвергается фосфолированию, проникая в ядро клетки, стимулируя транскрипцию гена *TRPC6*. Это приводит к дополнительному повышению уровня кальция в клетке, тем самым реализуется механизм положительной обратной связи [24]. Помимо NFAT, кальциневрин имеет множество субстратов, включая факторы транскрипции, рецепторы, ионные каналы, белки цитоскелета, белки, участвующие в механизмах апоптоза, которые при активации кальциневрина, индуцированной TRPC6, могут способствовать прогрессированию хронической болезни почек [25].

В последнее время рассматривается роль и других катионных каналов потенциального рецептора TRPC. Известно, что подоциты клубочков экспрессируют TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC5 и TRPC6. С помощью электрофизиологических и фармакологических методов показано, что только TRPC3, TRPC5 и TRPC6 обеспечивают поступление кальция в подоциты [26]. Наиболее изучена роль в повреждении почек кати-

онных каналов TRPC5 и TRPC6, однако появляются данные и о роли TRPC3 [27]. TRPC3, как и TRPC6, вносит существенный вклад в увеличение уровня внутриклеточного кальция, тем самым активируя каскад передачи сигналов на кальциневрин, способствуя формированию гломерулосклероза [26, 27]. Отмечена активация TRPC3, как и TRPC6, при гломерулярных заболеваниях без изменения TRPC5.

В настоящее время в отделе наследственных и приобретенных болезней почек им. проф. М.С. Игнатовой НИКИ педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева ведутся исследования по изучению молекулярно-генетических механизмов развития первичного нефротического синдрома у детей, цель которого — повышение эффективности лечения на основе разработки молекулярно-генетических критериев персонализированной терапии.

Цель исследования: изучение экспрессии генов семейства катионных каналов потенциального рецептора *TRPC1*, *TRPC3*, *TRPC4*, *TRPC5* и *TRPC6* у детей с идиопатическим нефротическим синдромом в зависимости от морфологической картины заболевания и чувствительности к стероидной терапии.

Характеристика детей и методы исследования

Под наблюдением находились 48 детей, из них 15 (31%) девочек и 33 (69%) мальчика. Средний возраст детей на момент исследования составлял $9,6 \pm 3,8$ года: мальчиков — $9,4 \pm 3,6$ года, девочек — $10,07 \pm 4,5$ года. Группу контроля составили 24 условно здоровых ребенка (в анамнезе отсутствовали заболевания почек, а также данные о приеме стероидной терапии), средний возраст которых составил $9,4 \pm 4,3$ года, из них 10 (42%) девочек и 14 (58%) мальчиков. Распределение по возрасту основной группы и группы контроля правильное: $K-C \ d=0,12 \ (p>0,2)$ и $K-C \ d=0,12 \ (p>0,2)$ соответственно.

На основании результатов клинико-лабораторного и инструментального исследований у всех пациентов был диагностирован идиопатический нефротический синдром. В зависимости от уровня чувствительности к стероидной терапии были выделены следующие варианты нефротического синдрома (табл. 1).

I. Стероидрезистентный нефротический синдром. Характеризуется протеинурией, сохраняющейся после курса преднизолона в дозе 2 мг/кг 24 ч (не более 60 мг/24 ч) в течение 6–8 нед (и последующих 3 внутривенных введений метилпреднизолона в дозе 20–30 мг/кг, но не более 1 г на введение).

II. Стероидзависимый нефротический синдром. Характеризуется развитием рецидивов заболевания при снижении дозы преднизолона или в течение 2 нед после его отмены (при условии проведения адекватных доз и курса стероидной терапии).

III. Стероидчувствительный нефротический синдром. Характеризуется развитием полной клинико-лабораторной ремиссии заболевания на фоне приема

преднизолона в дозе 2 мг/кг 24 ч (не более 60 мг/24 ч) в течение 6–8 нед и отсутствием рецидива заболевания в течение 2 нед после его отмены.

Помимо распределения пациентов в зависимости от чувствительности к стероидной терапии, их распределили на группы в зависимости от морфологического варианта заболевания (табл. 2). У детей со стероидрезистентным нефротическим синдромом нефробиопсия проведена в 100% случаев, при этом морфологический вариант у всех детей определен как фокальный сегментарный гломерулосклероз. У детей со стероидзависимым нефротическим синдромом нефробиопсия проведена в 73% случаев, при этом фокальный сегментарный гломерулосклероз определен в 44% случаев, а 56% случаев выявлены минимальные изменения. У детей со стероидчувствительным нефротическим синдромом нефробиопсия проведена в 50% случаев при этом из них минимальные изменения отмечались у 60% пациентов, а у 40% – мезангиопролиферативный вариант.

В исследуемых группах проводился анализ экспрессии генов, отвечающих за развитие нефротического синдрома, на цифровом анализаторе нуклеиновых кислот nCounter («Nanosttring Technologies», США). У всех пациентов выделяли РНК из периферической крови: каждый образец представлял собой 100 нг мРНК в концентрации 20 нг/мкл. Полученные данные по экспрессии генов выражены в условных единицах – число молекул мРНК на стандартный объем образца в запуске (5 мкл).

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программного обеспечения Statistica 10.0. Для оценки правильности распре-

деления выборки использовали критерий Колмогорова–Смирнова. Если распределение отличалось от нормального, использовали методы непараметрической статистики: оценка зависимых и независимых групп, определение корреляции по Спирмену. При оценке достоверности статистических гипотез статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

На рис. 4 представлен уровень экспрессии генов *TRPC* в исследуемых группах. Как по данным литературы, так и по полученным нами результатам наибольшего внимания заслуживает уровень экспрессии трех генов рецептора катионных каналов: *TRPC3*, *TRPC5* и *TRPC6* (табл. 3).

При сравнении вариантов нефротического синдрома в зависимости от ответа на стероидную терапию получены достоверные различия по уровню экспрессии гена *TRPC6* между группами со стероидрезистентным и стероидчувствительным нефротическим синдромом, а также группой контроля *TRPC6* ($p < 0,00001$ и $p < 0,0004$ соответственно; рис. 5). Достоверные различия по уровню экспрессии генов *TRPC3*, *TRPC5* и *TRPC6* между группами со стероидрезистентным и стероидзависимым нефротическим синдромом отсутствовали. Корреляционный анализ выявил прямую средней силы связь между стероидрезистентным нефротическим синдромом и уровнем экспрессии гена *TRPC6* ($r = 0,54$; $p < 0,05$).

Так как в патогенезе фокального сегментарного гломерулосклероза рецепторы TRPC принимают непосредственное участие, то сравнение независи-

Таблица 1. Распределение пациентов по группам в зависимости от уровня чувствительности к стероидной терапии

Table 1. Distribution of patients into groups according to the level of sensitivity to steroid therapy

Группы	Число больных	Возраст, годы	Пол (мальчики/девочки)
I. Стероидрезистентный нефротический синдром	16	10,5±4,06	10/6
II. Стероидзависимый нефротический синдром	22	9,06±3,39	16/6
III. Стероидчувствительный нефротический синдром	10	8,4±4,06	6/4
IV. Группа контроля	24	9,4±4,3	14/10

Таблица 2. Распределение пациентов по группам в зависимости от морфологического варианта

Table 2. Distribution of patients into group according to the morphological variant

Группа	Число больных	Число биопсий	ФСГС	МППГН	МИ	Пациенты без биопсии*
I. Стероидрезистентный нефротический синдром	16	16 (100%)	16 (100%)	—	—	—
II. Стероидзависимый нефротический синдром	22	16 (73%)	7 (44%)	—	9 (56%)	6 (27%)
III. Стероидчувствительный нефротический синдром	10	5 (50%)		2 (40%)	3 (60%)	5 (50%)

Примечание. * – учитывая строгие показания к нефробиопсии, морфологическое исследование проводилось не у всех пациентов. ФСГС – фокальный-сегментарный гломерулосклероз; МППГН – мезангиопролиферативный гломерулонефрит; МИ – минимальные изменения.

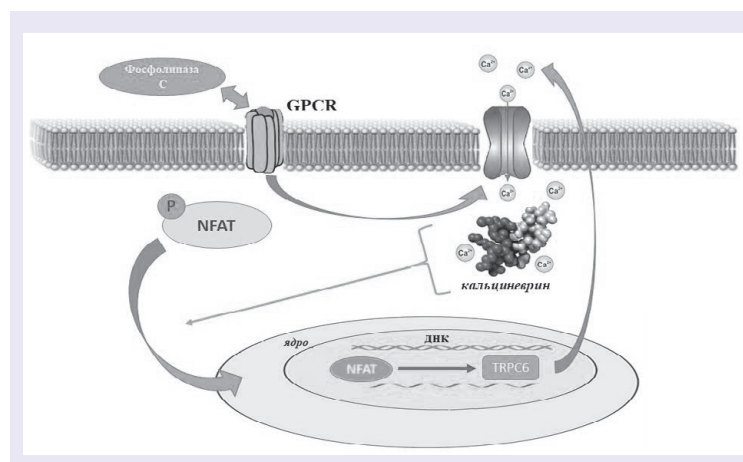


Рис. 4. Молекулярные механизмы регуляции экспрессии TRPC6. NFAT – ядерный фактор активированных Т-клеток; GPCR – рецептор, связанный с фосфолипазой С.

Fig. 4. Molecular mechanisms of TRPC6 expression regulation. NFAT – nuclear factor of activated T cells; GPCR – receptor associated with phospholipase C.

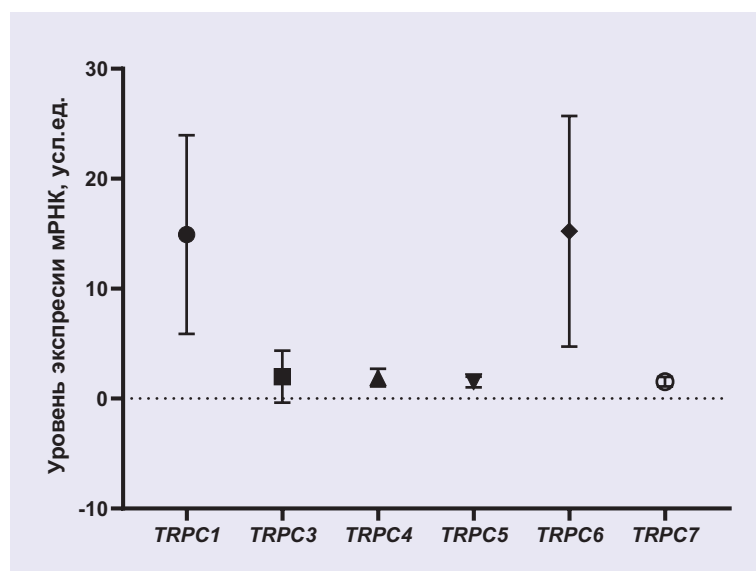


Рис. 5. Уровень экспрессии генов *TRPC1*, *TRPC3*, *TRPC4*, *TRPC5*, *TRPC6*, *TRPC7*.

Fig. 5. Expression level of genes *TRPC1*, *TRPC3*, *TRPC4*, *TRPC5*, *TRPC6*, *TRPC7*.

Таблица 3. Уровень экспрессии генов катионных каналов потенциального рецептора *TRPC3*, *TRPC5* и *TRPC6*, усл.ед. ($M \pm m$)
Table 3. The level of gene expression of the cationic channels of the potential receptor *TRPC3*, *TRPC5*, *TRPC6*, conventional units ($M \pm m$)

Группа	Число пациентов	<i>TRPC3</i>	<i>TRPC5</i> , усл.ед.	<i>TRPC6</i> , усл.ед.
I. Стероидрезистентный нефротический синдром	16	3,34±4,7	1,7±0,6	24,9±10,3
II. Стероидзависимый нефротический синдром	22	1,69±0,59	1,5±0,4	20,5±9,1
III. Стероидчувствительный нефротический синдром	10	1,3±0,3	1,3±0,3	8,8±4,9
Группа контроля	24	1,6±0,3	1,5±0,4	7,03±4,03
Фокально-сегментарный гломерулосклероз	26	2,97±4,4	1,69±0,5	27,3±6,9
Минимальные изменения	9	1,23±0,3	1,4±0,37	10,2±3,8

мых групп проводилось с учетом морфологических вариантов нефротического синдрома ФГС и МИ, в результате чего получены достоверные различия по уровню экспрессии генов *TRPC3* и *TRPC6* (табл. 4).

Корреляционный анализ показал прямую сильную связь между фокально-сегментарным гломерулосклерозом и уровнем экспрессии генов *TRPC6* ($r=0,87$; $p<0,05$) и *TRPC3* ($r=0,87$; $p<0,05$).

Обсуждение

Результаты настоящей работы перспективны в изучении патогенеза фокально-сегментарного гломерулосклероза у детей с первичным нефротическим синдромом. Формирование фокального сегментарного гломерулосклероза наблюдается преимущественно при тяжелых вариантах нефротического синдрома, которые либо резистентны к стандартной терапии стероидами, либо имеют стероидную зависимость. Поиск ранних маркеров формирования фокального сегментарного гломерулосклероза до проведения нефробиопсии нам представляется перспективным. В качестве таких маркеров возможно использование определения экспрессии генов *TRPC3* и *TRPC6*, что позволяет прогнозировать развитие у пациента фокально-сегментарного гломерулосклероза.

Кроме того, высокую экспрессию гена *TRPC6* можно расценить как косвенный признак имеющейся или формирующейся стероидной резистентности у детей с первичным нефротическим синдромом. При этом препаратами выбора для иммуносупрессивной терапии у этих пациентов будут ингибиторы кальциневрина. Это объясняется прежде всего особенностью взаимодействия кальциневрина с рецепторами семейства TRPC, на что указано ранее.

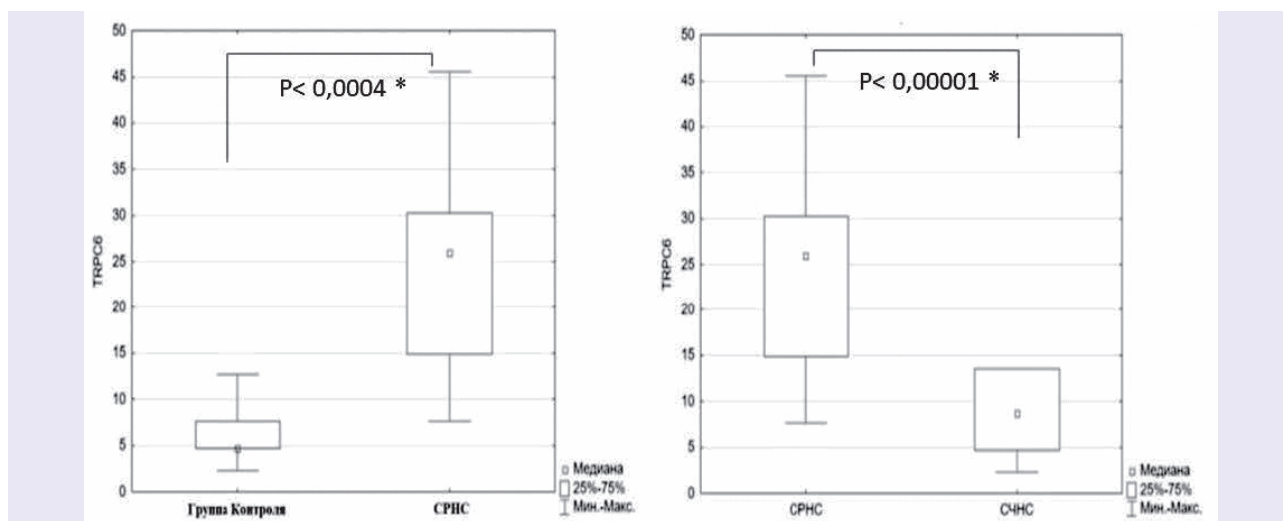


Рис. 6. Уровень экспрессии гена *TRPC6* у детей со стероидрезистивным нефротическим синдромом (СРНС), стероидчувствительным нефротическим синдромом (СЧНС) и в группе контроля.

* — различия при сравнении больных с нефротическим синдромом в зависимости от стероидной чувствительности достоверны.

Fig. 6. Expression level of the *TRPC6* gene in children with Steroid Resistant Nephrotic Syndrome, Steroid Sensitive Nephrotic Syndrome, control group.

* — differences when comparing patients with nephrotic syndrome depending on steroid sensitivity are significant ($p < 0.05$).

Таблица 4. Уровень экспрессии генов катионных каналов потенциального рецептора *TRPC3* и *TRPC6* в зависимости от морфологического варианта нефротического синдрома, усл.ед. ($M \pm m$)

Table 4. The level of gene expression of the cationic channels of the potential receptor *TRPC3* and *TRPC6* according to the morphological variant of nephrotic syndrome, conventional units ($M \pm m$)

Группа	Число пациентов	<i>TRPC3</i>	<i>TRPC6</i>
I. Фокально-сегментарный гломерулосклероз	26	2,97±4,4	27,3±6,9
II. Минимальные изменения	9	1,23±0,3	10,2±3,8
P_{I-II}	—	0,003*	0,000002*

Примечание. * — достоверные различия при сравнении больных с нефротическим синдромом в зависимости от морфологического варианта ($p < 0,05$).

Закключение

Таким образом, на основании полученных результатов показана важность разработки диагностических панелей на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени (Real-Time PCR), которые позволят прогнозировать чувствительность к стероидной терапии и обосновать использова-

ние кальциневринов как препаратов первой линии иммуносупрессивной терапии, у пациентов с нефротическим синдромом с позиций персонализированной терапии. Кроме того, данная технология позволит прогнозировать развитие неблагоприятного морфологического варианта идиопатического нефротического синдрома — фокального сегментарного гломерулосклероза.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

- Eddy A.A., Symons J.M. Nephrotic syndrome in childhood. Lancet 2003; 362(9384): 629–639. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)14184-0
- Becherucci F., Roperto R.M., Materassi M., Romagnani P. Chronic kidney disease in children. Clin Kidney J 2016; 9(4): 583–591. DOI: 10.1093/ckj/sfw047
- Harambat J., van Stralen K.J., Kim J.J., Tizard E.J. Epidemiology of chronic kidney disease in children. Pediatr Nephrol 2012; 27(3): 363–373. DOI: 10.1007/s00467-011-1939-1
- Kriz W., Gretz N., Lemley K.V. Progression of glomerular diseases: Is the podocyte the culprit? Kidney Int 1998; 54(3): 687–697. DOI: 10.1046/j.1523-1755.1998.00044.x
- Pavenstädt H., Kriz W., Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. Physiol Rev 2003; 83(1): 253–307. DOI: 10.1152/physrev.00020.2002
- Pollak M.R., Quaggin S.E., Hoenig M.P., Dworkin L.D. The glomerulus: the sphere of influence. Clin J Am Soc Nephrol 2014; 9(8): 1461–1469. DOI: 10.2215/CJN.09400913

7. Wiggins R.C. The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases. *Kidney Int* 2007; 71(12): 1205–1214. DOI: 10.1038/sj.ki.5002222
8. Rosenberg A.Z., Kopp J.B. Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2017; 12(3): 502–517. DOI: 10.2215/CJN.05960616
9. Gees M., Colasoul B., Nilius B. The role of transient receptor potential cation channels in Ca^{2+} signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2(10): a003962. DOI: 10.1101/cshperspect.a003962
10. Nilius B., Owsianik G., Voets T., Peters J.A. Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiol Rev* 2007; 87(1): 165–217. DOI: 10.1152/physrev.00021.2006
11. Ding Y., Winters A., Ding M., Graham S., Akopova I., Muallem S. et al. Reactive oxygen species-mediated TRPC6 protein activation in vascular myocytes, a mechanism for vasoconstrictor-regulated vascular tone. *J Biol Chem* 2011; 286(36): 31799–31809. DOI: 10.1074/jbc.M111.248344
12. Kim E.Y., Anderson M., Wilson C., Hagmann H., Benzing T., Dryer S.E. NOX2 interacts with podocyte TRPC6 channels and contributes to their activation by diacylglycerol: essential role of podocin in formation of this complex. *Am J Physiol Cell Physiol* 2013; 305(9): 960–971. DOI: 10.1152/ajpcell.00191.2013
13. Winn M.P., Conlon P.J., Lynn K.L., Farrington M.K., Creazzo T., Hawkins A.F. et al. A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science* 2005; 308(5729): 1801–1804. DOI: 10.1126/science.1106215
14. Reiser J., Polu K.R., Möller C.C., Kenlan P., Altintas M.M., Wei C. et al. TRPC6 is a glomerular slit diaphragm-associated channel required for normal renal function. *Nat Genet* 2005; 37(7): 739–744. DOI: 10.1038/ng1592
15. Huber T.B., Schermer B., Müller R.U., Höhne M., Bartram M., Calixto A. et al. Podocin and MEC-2 bind cholesterol to regulate the activity of associated ion channels. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(46): 17079–17086. DOI: 10.1073/pnas.0607465103
16. Zhu B., Chen N., Wang Z.-H., Pan X.-X., Ren H., Zhang W. et al. Identification and functional analysis of a novel TRPC6 mutation associated with late onset familial focal segmental glomerulosclerosis in Chinese patients. *Mutat Res* 2009; 664(1–2): 84–90. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2008.11.021
17. Büscher A.K., Konrad M., Nagel M., Witzke O., Kribben A., Hoyer P.F. et al. Mutations in podocyte genes are a rare cause of primary FSGS associated with ESRD in adult patients. *Clin Nephrol* 2012; 78(1): 47–53. DOI: 10.5414/cn107320
18. Heeringa S.F., Möller C.C., Du J., Yue L., Hinkes B., Chernin G. et al. A novel TRPC6 mutation that causes childhood FSGS. *PLoS One* 2009; 4(11): e7771. DOI: 10.1371/journal.pone.0007771
19. Wang L., Jirka G., Rosenberg P.B., Buckley A.F., Gomez J.A., Fields T.A. et al. Gq signaling causes glomerular injury by activating TRPC6. *J Clin Invest* 2015; 125(5): 1913–1926. DOI: 10.1172/JCI176767
20. Möller C.C., Flesche J., Reiser J. Sensitizing the Slit Diaphragm with TRPC6 ion channels. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20(5): 950–953. DOI: 10.1681/ASN.2008030329
21. Möller C.C., Wei C., Altintas M.M., Li J., Greka A., Ohse T. et al. Induction of TRPC6 channel in acquired forms of proteinuric kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(1): 29–36. DOI: 10.1681/ASN.2006091010
22. Krall P., Canales C.P., Kairath P., Carmona-Mora P., Molina J., Carpio J.D. et al. Podocyte-specific overexpression of wild type or mutant *trpc6* in mice is sufficient to cause glomerular disease. *PLoS One* 2010; 5(9): e12859. DOI: 10.1371/journal.pone.0012859
23. Hogan P.G., Chen L., Nardone J., Rao A. Transcriptional regulation by calcium, calcineurin, and NFAT. *Genes Dev* 2003; 17(18): 2205–2232. DOI: 10.1101/gad.1102703
24. Kuwahara K., Wang Y., McAnally J., Richardson J.A., Bas-rel-Duby R., Hill J.A. et al. TRPC6 fulfills a calcineurin signaling circuit during pathologic cardiac remodeling. *J Clin Invest* 2006; 116(12): 3114–3126. DOI: 10.1172/JCI27702
25. Li H., Rao A., Hogan P.G. Interaction of calcineurin with substrates and targeting proteins. *Trends Cell Biol* 2011; 21(2): 91–103. DOI: 10.1016/j.tcb.2010.09.011
26. Ilatovskaya D.V., Staruschenko A. TRPC6 channel as an emerging determinant of the podocyte injury susceptibility in kidney diseases. *Am J Physiol Renal Physiol* 2015; 309(5): F393–397. DOI: 10.1152/ajprenal.00186.2015
27. Saliba Y., Karam R., Smayra V., Aftimos G., Abramowitz J., Birnbaumer L. et al. Evidence of a Role for Fibroblast Transient Receptor Potential Canonical 3 Ca^{2+} Channel in Renal Fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26(8): 1855–1876. DOI: 10.1681/ASN.2014010065

Поступила: 15.05.21

Received on: 2021.05.15

Источник финансирования:

работа выполнена в рамках финансирования Госзадания «Клинические и молекулярно-генетический критерии прогнозирования эффективности стероидной и иммуносупрессивной терапии первичного нефротического синдрома у детей» № 200080056

Source of funding:

the work was carried out within the framework of funding from the State Assignment “Clinical and molecular genetic criteria for predicting the effectiveness of steroid and immunosuppressive therapy for primary nephrotic syndrome in children” No. 200080056

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest, which should be reported.