

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Бобылева Ирина Андреевна

Генетические детерминанты развития мембранозной нефропатии

14.01.29 – Нефрология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Бобкова Ирина Николаевна

Москва – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Мембранозная нефропатия: определение, эпидемиология и клинические проявления	12
1.2. История исследования и современные представления о патогенезе идиопатической мембранозной нефропатии.....	13
1.2.1. Появление морфологических критериев мембранозной невропатии.....	13
1.2.2. Животная модель нефрита	13
1.2.3. Открытие основных антигенов при идиопатической мембранозной нефропатии	14
1.3. Роль PLA2R и HLA в патогенезе идиопатической мембранозной нефропатии	16
1.4. Изучение генетической предрасположенности к развитию идиопатической мембранозной нефропатии	19
1.4.1. Современное представление о значении полиморфных маркеров генов в развитии заболеваний	19
1.4.2. Значение полиморфных маркеров генов HLA-DQA1 в развитии идиопатической мембранозной нефропатии	20
1.4.3. Значение полиморфных маркеров генов PLA2R1 в течении идиопатической мембранозной нефропатии	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	34
2.1. Характеристика исследованных групп.....	34
2.2. Характеристика обследованных больных идиопатической мембранозной нефропатией.....	35
2.3. Характеристика контрольных групп	41

2.4. Методы обследования больных	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	45
3.1. Анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов PLA2R1 и HLA-DQA1 с развитием идиопатической мембранозной нефропатии	45
3.1.1. Анализ ассоциации полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 с развитием идиопатической мембранозной нефропатии	45
3.1.2. Анализ ассоциации полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 с развитием идиопатической мембранозной нефропатии	47
3.1.3. Генетическое взаимодействие между полиморфными маркерами rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1	48
3.1.4. Анализ ассоциации полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с развитием идиопатической мембранозной нефропатии в группах, разделенных по количеству аллелей риска.....	51
3.1.5. Формирование групп, разделенных в зависимости от аллелей и генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 для дальнейшего анализа	52
3.2. Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с выявлением АТ к PLA2R.....	53
3.2.1. Анализ клинических проявлений идиопатической мембранозной нефропатии в зависимости от выявления АТ к PLA2R	53
3.2.2. Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с выявлением и титрами АТ к PLA2R	57
3.3. Характеристика клинических особенностей идиопатической мембранозной нефропатии в зависимости от генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1	61
3.3.1. Характеристика пола.....	61

3.3.2. Характеристика дебюта идиопатической мембранозной нефропатии	62
3.3.3. Характеристика выраженности нефротического синдрома.....	65
3.3.4. Характеристика выраженности артериальной гипертензии	72
3.3.5. Характеристика нарушения функции почек, морфологической стадии идиопатической мембранозной нефропатии и времени, прошедшего от дебюта заболевания до выполнения биопсии почки	74
3.4. Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с эффективностью иммуносупрессивной терапии.....	80
3.5. Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 со скоростью прогрессирования ИМН	88
ГЛАВА 4. ОСБУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	94
ВЫВОДЫ	103
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	105
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	108

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Мембранозная нефропатия (МН) является наиболее частой причиной развития нефротического синдрома (НС) у взрослых и встречается примерно в 1 случае на 100000 населения в год [20, 95, 98, 120]. С учетом того, что МН не является социально значимым заболеванием и ее диагностика базируется на результатах гистологического исследования, делает ее хорошим объектом для поиска полигенных ассоциаций.

В последнее десятилетие идентифицирован ключевой антиген, участвующий в развитии идиопатической мембранозной нефропатии (ИМН), - рецептор к фосфолипазе A2 (PLA2R) [7, 36, 91, 92]. Одной из гипотез, объясняющих выработку аутоантител при ИМН, является возможные конформационные изменения в PLA2R, которые связаны с полиморфизмом гена, кодирующего данный рецептор. С другой стороны, принимая во внимание, что выработка антител (АТ) может быть обусловлена особенностью работы иммунной системы человека, интерес составляет изучение связи полиморфизмов генов главного комплекса гистосовместимости человека (МНС) с развитием ИМН.

В настоящее время появились работы, показавшие ассоциацию генетических полиморфизмов генов PLA2R1 и HLA-DQA1 с повышенным риском развития ИМН [12, 45, 62, 83, 6, 102, 106, 110]. Данные риски были выявлены у пациентов ИМН, относящихся к европейской, азиатской и афроамериканской популяциям. С учетом того, что наблюдаются некоторые различия в степени риска в результатах иностранных авторов, интерес составляет изучение влияния полиморфизмов PLA2R1 и HLA-DQA1 на развитие ИМН в российской популяции. Кроме того, мало изучена ассоциация данных генов с развитием других форм хронических гломерулонефритов (ГН), для подтверждения специфичности данных полиморфных маркеров для ИМН.

В ряде исследований получены результаты, свидетельствующие о прямой связи полиморфизмов rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-

DQA1 с выработкой АТ к PLA2R [62, 83], однако, данная связь мало изучена в европейской популяции: существуют единичные работы, противоречивые результаты которых не позволяют сделать определенных выводов.

В последнее время начали появляться данные о связи генов PLA2R1 и HLA-DQA1 с особенностью клинической картины и течения заболевания. В части работ не выявлено какой-либо связи с клинической картиной и течением ИМН [45, 110], в части работ была выявлена связь с почечной выживаемостью [12]. Таким образом пока еще не ясно связано ли носительство того или иного генотипа генов PLA2R1 и HLA-DQA1 с особенностью течения ИМН, и могут ли данные полиморфизмы стать важными прогностическими факторами в будущем.

Кроме того, мало изучена связь генов PLA2R1 и HLA-DQA1 с ответом на иммуносупрессивную терапию (ИСТ). Существует всего 2 работы, осветившие данные вопрос: в работе китайских авторов не было обнаружено связи с ответом на ИСТ, и наоборот, в работе испанских авторов показана связь комбинации генотипов риска полиморфизмов rs4664308 гена PLA2R1 и rs21887668 гена HLA-DQA1 с более частым развитием частичной или полной ремиссии [12, 61]. В связи с этим, большой интерес представляет изучение связи полиморфизмов генов, кодирующих HLA и PLA2R, и ответом на ИСТ, что может в дальнейшем помочь выделить группу с возможным плохим ответом на ИСТ, а также в создании новых таргетных препаратов для лечения ИМН.

Степень разработанности темы

Генетические детерминанты развития ИМН, в частности роль гена PLA2R1 и генов главного комплекса гистосовместимости человека (HLA), изучаются зарубежными авторами с второй декады 2000 гг. Наиболее значимый вклад внесли Н.С. Stanescu и соавт. (2011), которые впервые выявили статистически значимую ассоциацию ИМН с полиморфными маркерами rs2187668 гена HLA-DQA1 и rs4664308 гена PLA2R1 с развитием ИМН в трех европейских популяциях (Дания, Франция и Великобритания).

При этом оказалось, что у пациентов, гомозиготных по аллелям риска обоих полиморфных маркеров, вероятность развития ИМН возрастает почти в 80 раз (отношение шансов 78). В дальнейшем J. Lv и соавт. (2013), G. Bullich и соавт. (2014), R. Ramachandran и соавт. (2016) продолжили исследования в этом направлении и установили взаимосвязь между носительством аллелей риска данных полиморфных маркеров и развитием, течением и ответом на терапию при ИМН.

В российской популяции ассоциация вариантов генов PLA2R1 и HLA с предрасположенностью к развитию ИМН и особенностями ее течения изучена нами впервые.

Цель исследования

Изучить вклад вариантов генов, ответственных за синтез специфического подоцитарного антигена (PLA2R1) и аутоантител к нему (HLA-DQA1), в развитие ИМН.

Задачи исследования

В популяции российских пациентов с морфологически подтвержденной ИМН:

1. Изучить ассоциацию полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 и их сочетания с развитием ИМН и установить аллели/генотипы повышенного риска
2. Оценить взаимосвязь генотипов повышенного риска полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с продукцией АТ к PLA2R
3. Выявить особенности клинической картины ИМН в зависимости от генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1, rs2187668 гена HLA-DQA1 и их комбинаций;
4. Проанализировать характер ответа на патогенетическую терапию с учетом генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1, rs2187668 гена HLA-DQA1 и их комбинаций;

5. Определить роль полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1, rs2187668 гена HLA-DQA1 и их комбинаций в прогрессировании дисфункции почек.

Научная новизна работы

В данной работе впервые в российской популяции изучена ассоциация полиморфных маркеров генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) с развитием и течением ИМН.

Теоретическая и практическая значимость работы

Были идентифицированы аллели и генотипы полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 и полиморфного маркера rs2187668 гена HLA, определяющие высокий риск развития ИМН, ее клиническую и серологическую активность, особенности ответа на терапию. Результаты проведенного исследования могут стать инструментом для выделения среди больных ИМН группы с генетическим риском и послужить обоснованием персонализированного подхода к их ведению.

Клинико-генетическое обследование с определением изученных маркеров может иметь значение для прогнозирования течения ИМН и его ответа на лечение, обоснования применения в группах генетического риска таргетных препаратов, подавляющих выработку антител к PLA2R.

Методология и методы исследования

При оценке генетического риска развития ИМН проведено проспективное наблюдательное исследование «случай-контроль», при оценке клинической картины, ответа на ИСТ, и прогноза почечной выживаемости проведено ретроспективное наблюдательное исследование. В ходе проведения работы использованы теоретический анализ, наблюдение и сравнение с последующей статистической обработкой материала.

Положения, выносимые на защиту

1. Носительство аллеля А и генотипа АА полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1, кодирующего подоцитарный рецептор PLA2R, и аллеля А и генотипа АА полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1,

ответственного за синтез антител к рецептору PLA2R, ассоциировано с повышенным риском развития ИМН. Наиболее высокую вероятность развития ИМН имеют носители комбинации 3-х или 4-х аллелей риска генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668).

2. У пациентов с ИМН носительство аллелей риска полиморфных маркеров PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) определяет течение заболевания с более высокой серологической и клинической активностью.

3. У пациентов с ИМН, являющихся носителями генотипа AA гена HLA-DQA1 (rs2187668) или комбинации 3-х или 4-х аллелей риска генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668), для индукции ремиссии ИМН (полной или частичной) необходима более агрессивная и длительная иммуносупрессивная терапия.

4. Скорость прогрессирования ИМН зависит не от вариантов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1, а от наличия и возможностей коррекции традиционных факторов риска ХБП.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов и выводов исследования обеспечивается однородностью и достаточностью выборки (в исследуемой группе только пациенты с ИМН), применением современных методов диагностики и статистической обработки материала.

Апробация диссертации состоялась 16 апреля 2021 г. на заседании кафедры внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (протокол № 6).

Материалы диссертации представлены на 56-м Международном конгрессе Европейского общества нефрологов и Европейской ассоциации диализа и трансплантации (ERA-EDTA) (Венгрия, 2019 г.), IX съезде Научного общества нефрологов России (Москва, 2019 г.).

Личный вклад автора

Автором самостоятельно разработан план, определены цель и задачи исследования, выполнены основные этапы диссертационной работы (поиск литературы, сбор, анализ и обобщение материала), сформулированы выводы и подготовлены практические рекомендации. Автором самостоятельно проводилась подготовка биологического материала пациентов для дальнейшего генетического исследования. Автор принимала непосредственное участие в определении тактики ведения пациентов с ИМН, госпитализированных в нефрологическое отделение клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии им. Е.М. Тареева Университетской клинической больницы № 3 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Апробация работы

Диссертация апробирована на заседании кафедры внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 16 апреля 2021 года, протокол №6.

Внедрение в практику

Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, используются в работе нефрологического отделения клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева Университетской клинической больницы № 3 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), учебном процессе на кафедре внутренних, профессиональных болезней и ревматологии института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный

медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения и результаты исследования соответствуют формуле специальности 14.01.21 Нефрология. Диссертационная работа соответствует области исследования специальности, в частности пунктам 3, 5, 6 паспорта специальности 14.01.21 Нефрология.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 печатные научные работы в отечественных изданиях, из которых 1 статья в журнале, входящем в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных Scopus, и 2 статьи в журналах, входящем в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на **121** страницах машинописного текста и состоит из введения, **4** глав, заключения и выводов, практических рекомендаций, списка литературы, иллюстрирована **58** таблицами и **40** рисунками. Библиография включает **139** источников (**15** – отечественных, **124** – зарубежных).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Мембранозная нефропатия: определение, эпидемиология и клинические проявления

Согласно современным представлениям, МН является вариантом иммунокомплексного гломерулонефрита, развитие которого обусловлено субэпителиальным отложением иммунных комплексов в стенках капилляров клубочков, и по-прежнему остается наиболее распространенной причиной развития НС у взрослых как в европейской [2, 6, 84], так и в азиатской популяциях [122, 123]. Примерно в 30% случаев у пациентов с направительным диагнозом хронический гломерулонефрит по данным биопсии почки выставляется морфологический диагноз МН [10, 32, 54, 78, 87].

В зависимости от этиологии развития МН делится на первичную (идиопатическую) МН, когда причина развития заболевания неизвестна, и вторичную, когда этиологический фактор четко определяется (аутоиммунные заболевания, злокачественные новообразования или применение определенных лекарственных препаратов) [30].

На долю идиопатической МН (ИМН) приходится большинство больных с МН [13, 29, 48]. Характер течения ИМН варьируется от спонтанной ремиссии заболевания (приблизительно в 20-30% случаев в зависимости от тяжести протеинурии (ПУ)) до персистирования ПУ нефротического и субнефротического уровня с медленным прогрессированием до терминальной хронической почечной недостаточности (тХПН), несмотря на проведение адекватной иммуносупрессивной терапии (ИСТ) [31, 35, 37, 67, 76, 79].

1.2. История исследования и современные представления о патогенезе идиопатической мембранозной нефропатии

1.2.1. Появление морфологических критериев мембранозной нефропатии

В 1946 году профессор Университета Миннесоты Е. Bell впервые в своем труде «Renal diseases» использовал термин «мембранозная нефропатия». Однако сам термин не являлся определением самостоятельного заболевания, а скорее отражал семейство заболеваний почек, относящиеся к болезни Брайта II типа (историческое название болезни почек, протекавшее с высоким уровнем белка в моче и развитием водянки), к которым так же относились мембранопротрофиеративные ГН, болезнь минимальных изменений (БМИ) и фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС) [8].

С развитием новых технологий проведения морфологических исследований и изобретением нового способа окрашивания биоптата почки на основе серебра в 1957 г. D. Jones выделил и описал МН как отдельную клинико-патологическую нозологию и выделил морфологические изменения, характерные именно для МН, к которым относилось изменение в структуре базальной мембраны и утолщение капиллярной стенки [44]. В дальнейшем при появлении и внедрении в практику электронных микроскопов Mellors и соавт. описали третий характерный признак МН – субэпитеально расположенные электронно-плотные депозиты, содержащие иммуноглобулина класса G (Ig G) [66].

1.2.2. Животная модель нефрита

Большим прорывом в понимание патогенеза гломерулярных патологий стало воссоздание животной модели нефрита. В 1959 г. W. Neumann путем внутрибрюшинного введения крысам гомогената крысиных почек в сочетании с адьювантом Фрейнда вызвал у животных нефрит, идентичный по своим клинико-морфологическим признакам МН человека [33]. По результатам исследования было выявлено субэпителиальное отложение циркулирующих

иммунных комплексов (ЦИК), возникновение которых индуцировалось фракцией щёточной каймы канальцевых эпителиоцитов, а не экстрактом клубочков, в связи с чем ученый предположил, что эти ЦИК состоят из антигенов к щеточной кайме канальцевых эпителиоцитов и соответствующих им АТ, которые откладываются в клубочках. Однако в 1980х была представлена пассивная модель нефрита, которая опровергнула первоначальное предположение. При введении АТ к щеточной кайме канальцевых эпителиоцитов ЦИК откладывались в клубочках в течение нескольких минут, а протеинурии появлялась лишь через 4-7 дней [19, 113].

Кроме того, эксперименты на перфузированных системах почек *in vitro* и *ex vivo* показали, что АТ, связанные с антигеном-мишенью, расположены на подоцитах, что свидетельствовало о формировании иммунных комплексов (ИК) *in situ* [18]. И в 1983 г. D. Kerjaschki и M.G. Farquhar окончательно идентифицировали первичный аутоантиген при активном и пассивном нефрите Хеймана, который представлял собой гликопротеин, в последующем названный мегалином (липопротеин низкой плотности рецептор-связанный белок-2 (receptor-related protein 2, LRP-2) молекулярной массой 600 kDa). [49, 50]. Хотя животная модель нефрита Хеймана внесла большой вклад в наше нынешнее понимание патомеханизмов МН, роль мегалина до настоящего времени в развитии МН у человека пока не установлена: мегалин был найден у человека только в проксимальных канальцах, но не в клубочках [126].

1.2.3. Открытие основных антигенов при идиопатической мембранозной нефропатии

Следующим этапом в исследование патогенеза МН стал поиск специфических антигенов и ауто-АТ у человека. В течение многих лет исследования, посвященные МН не приносили результата, однако, в 2002 г. группа ученых под руководством Р. Ronco впервые описали человеческий аналог пассивного нефрита Хеймана. В исследовании был показан случай развития тяжелой МН у младенца, рожденного от матери с генетически

обусловленным отсутствием нейтральной пептидазы (NEP), в крови которой были обнаружены циркулирующие антитела Ig G (подклассы Ig G4 и Ig G1) к NEP младенца. Проникновение через плацентарный барьер и образование иммунных комплексов с NEP плода вызывало развитие типичной клинкоморфологической картин МН у новорожденного [24, 25].

С появлением новых методик стали появляться новые возможности для выявления иммунологических маркеров заболеваний, и в 2009 г. L.H. Beck и соавт., используя вестерн-блоттинг и последующую масс-спектрометрию, впервые продемонстрировали наличие в ткани почек у 70% больных ИМН наличие рецепторов к фосфолипазе A2 (PLA2R) на поверхности подоцитарной мембраны и связанные с ними моноспецифичные анти-PLA2R антитела [7]. Кроме того, в ткани почек, взятых у пациентов с волчаночным ГН и Ig A-нефропатией, АТ и экспрессии рецепторов на подоцитарной мембране обнаружено не было, что позволило говорить о том, что PLA2R является специфичным маркером для ИМН.

В дальнейшем эти результаты подтвердились в исследованиях, проведенные в 2011г. W. Qin на китайской популяции, в которых было исследовано 60 человек с ИМН и 46 человек с вторичной МН. По результатам среди пациентов с ИМН у 49 (82%) выявлялись анти-PLA2R АТ, что подтвердило сделанные ранее выводы, что PLA2R является основным целевым антигеном при ИМН и что обнаружение анти-PLA2R АТ является чувствительным тестом для диагностики данного заболевания [81]. В этом же году J.M. Novstra провели аналогичное исследование на европейской популяции, исследовав 18 человек с ИМН и у 14 из них (77,8%) были выявлены АТ к PLA2R [36].

В дальнейшем появились работы, показавшие, что у пациентов с ИМН отмечалась повышенная экспрессии PLA2R на базальной мембране подоцита, по сравнению с людьми без заболеваний почек и с пациентами с другими морфологическими вариантами ГН, которая коррелировала с высокими титрами АТ к PLA2R [39, 58, 107]. Так же существует ряд исследований,

показавших связь уровня АТ к PLA2R с течением ИМН [5, 23, 40, 94, 114]. В настоящее время исследование уровней АТ к PLA2R используется в клинической практике врачей в дифференциальной диагностике между первичной и вторичной МН.

В дальнейшем М. Томас и соавт. идентифицировали антитела класса IgG4 к другому мембранассоциированному подоцитарному антигену – тромбоспондину-1, содержащему домен 7А (THSD7A). В исследовании приблизительно у 2,5-5% пациентов с идиопатической мембранозной нефропатией, которые были оценены, имели аутоантитела против THSD7A, что соответствовало 8-14% пациентов серонегативных по отношению к АТ к PLA2R [111], однако, роль THSD7A в развитии ИМН до сих пор обсуждается.

Примерно у 10% больных с ИМН не выявляются анти-PLA2R-АТ и анти-THSD7A-АТ, что позволяет обсуждать наличие других подоцитарных антигенов и факторов, обуславливающих выработку антител к собственным антигенам подоцитов [11, 14, 80].

1.3. Роль PLA2R и HLA в патогенезе идиопатической мембранозной нефропатии

PLA2R принадлежит к семейству маннозных рецепторов и представляет собой трансмембранный гликопротеин I типа, имеющий размер ~ 180 кДа. По структуре он схож с маннозным рецептором макрофага и состоит из богатого цистеином N-концевого домена (CysR), домена фибронектина II типа (FNII), восьми лектиноподобных доменов С-типа (CTLD), трансмембранного домена (TM) и короткого внутриклеточного С-концевого хвоста (IC) [1, 42, 55, 108] (Рисунок 1.1).

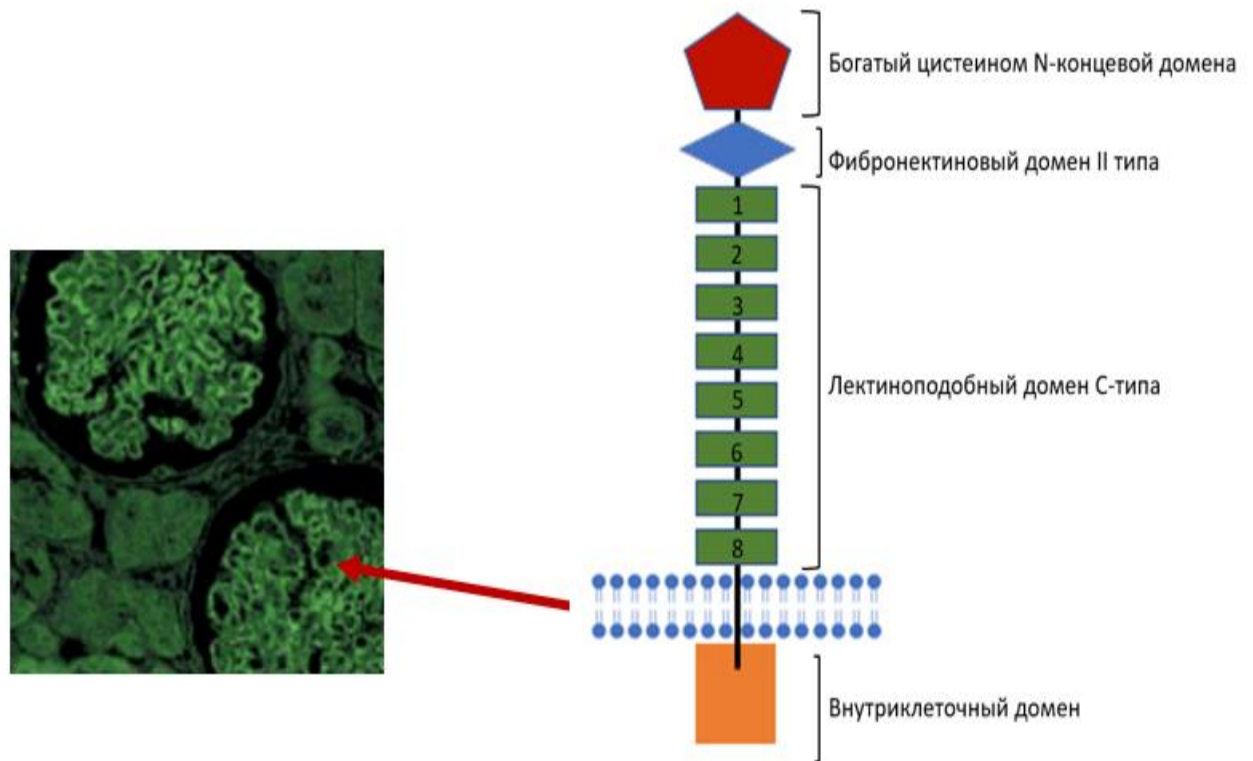


Рисунок 1.1 – Рецептор фосфолипазы A2 м-типа в нормальной ткани почек и клубочках [27, 47, 51, 81, 90, 132]

PLA2R экспрессируется на клеточной мембране и действует как рецептор для фосфолипазы A2, так же этот рецептор участвует в регуляции активности фермента, который индуцирует клеточную пролиферацию, адгезию, участвует в продукции липидных медиаторов и высвобождение арахидоновой кислоты [56]. Као и соавт. в 2015 г. провели полный анализ структуры PLA2R и показали, что иммунодоминантный эпитоп в данном рецепторе находится исключительно в области CysR, FNII и CTLD [47]. В эксперименте удаление первого CTLD из интактного внеклеточного домена приводило к тому, что АТ не связывались с PLA2R, что указывало на важную роль этого домена в стабилизации структуры эпитопа, участвующего в распознавании иммунной системой данного рецептора. Так же известно, что CTLD участвует в организации внутриклеточного матрикса, эндоцитозе, активации комплемента, распознавании патогенов и межклеточном взаимодействии [22, 55, 121].

Таким образом, сформировалась гипотеза о патогенезе ИМН, объясняющая выработку АТ, в которой важную роль отводят изменению подоцитарного рецептора PLA2R и приводит к накоплению антиподоцитарных АТ [68, 89, 93], что в свою очередь провоцирует каскад иммунологических реакций, приводящих к формированию мембраноатакующих ИК и повреждению ножек подоцитов, ПУ, разрушение фильтрационного барьера, нарушение функции почек вплоть до тХПН [59, 69, 100]. Помимо рецепторов на поверхности подоцитов важную роль в патогенезе ИМН играет иммунная дисрегуляция, которая связана с HLA DR5 и DQ и их способностью активировать компоненты комплимента, о чем свидетельствует отложение Ig G и C3 вдоль капилляров клубочков при иммунофлюорисцентном окрашивании биоптата почки больных ИМН [17, 52, 53, 65, 119] (Рисунок 1.2).

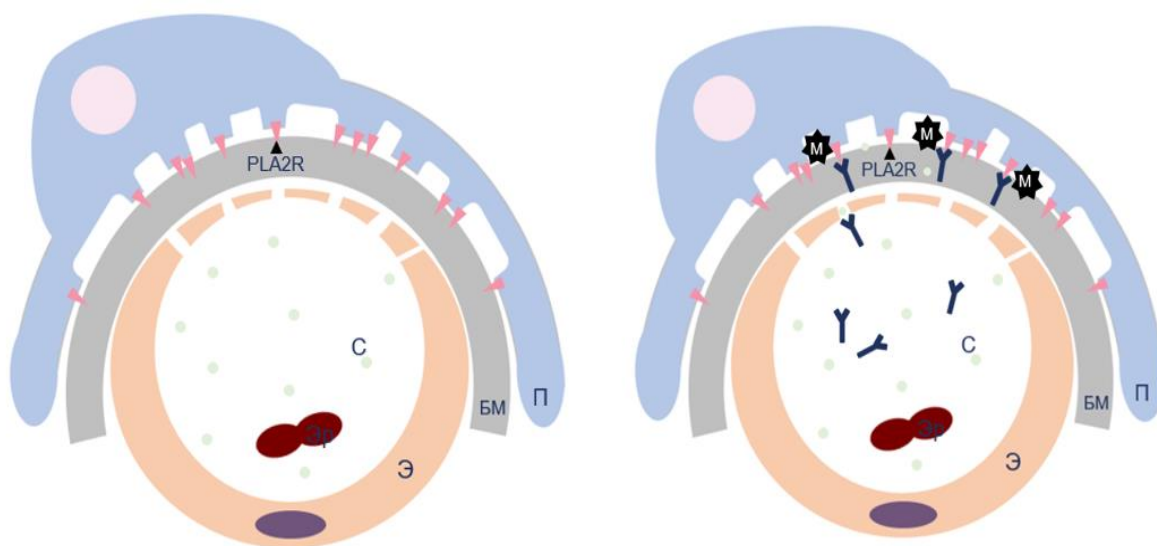


Рисунок 1.2 – Механизм развития ИМН (на рисунке: БМ - базальная мембрана; С - комплемент; Э - эндотелиальная клетка; М - мембраноатакующий комплекс; П - подоцит; Эр - эритроциты) [70]

1.4. Изучение генетической предрасположенности к развитию идиопатической мембранозной нефропатии

1.4.1. Современное представление о значении полиморфных маркеров генов в развитии заболеваний

В 2003г. был закончен проект «геном человека» [41], который стал предпосылкой к возникновению молекулярной медицины, основной целью которой стало изучение роли генетических составляющих в этиологии и патогенезе различных заболеваний человека. Заболевания человека можно разделить на две группы: собственно наследственные болезни (хромосомные и генные заболевания) и болезни с наследственной предрасположенностью (мультифакториальные заболевания).

Фенотипическая изменчивость определяется характером развития признаков, которые обусловлены состоянием генов или аллелями, а также факторами окружающей среды. Если фенотипические признаки, отражающие соответствующие аллели, не выходят за пределы нормы, то их называют нормальными или аллелями дикого типа. Нормальные аллели широко распространены среди населения Земли, однако, их частота варьируется в зависимости от этнической принадлежности. Полиморфными аллелями или полиморфизмами называется те аллели, частота которых в популяции не превышает определенный уровень. Аллели, приводящие к патологическому развитию признака, называются мутантными аллелями или мутациями [129].

Масштабы генетического полиморфизма у человека настолько велики, что между геномом двух людей можно выявить миллионы различий. Эти различия могут быть как индифферентными, то есть не приводящими к заболеваниям, либо определять предрасположенность к заболеваниям. Наиболее распространены в популяции полиморфные аллели, являющиеся вариантами нормы. Когда полиморфные аллели оказывают небольшой негативный эффект на функцию гена, его называют функциональным полиморфизмом. В настоящее время благодаря многочисленным работам,

посвященными оценкой взаимосвязи полиморфизмов генов и развитием различных распространенных хронических заболеваний, в том числе проведенных в Клинике ревматологии, нефрологии и профпатологии им. Е.М. Тареева [124, 125, 127, 131, 135], функциональные полиморфизмы рассматривают как генетические факторы риска, предрасполагающие к развитию многофакторных заболеваний [86]. Доказана существенная роль генетических факторов в возникновении сахарного диабета, бронхиальной астмы, ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, СКВ [57, 128, 130, 133, 136].

1.4.2. Значение полиморфных маркеров генов HLA-DQA1 в развитии идиопатической мембранозной нефропатии

Параллельно с открытием специфических АТ и антигенов при ИМН велись исследования, посвященные генетической предрасположенности к ИМН. Выявление семейных форм заболевания позволило предположить о наличии генетического фактора в развитие заболевания [9, 26, 97, 104, 116, 117]. Выявление генетической детерминированности ИМН стало ключевым шагом на пути к лучшему пониманию механизма заболевания и, следовательно, потенциала для разработки таргетных препаратов для лечения.

В течение последних 30 лет ученые всего мира уделяют большое внимание уточнению генетической детерминированности ИМН, в частности поиск «аллелей риска», ассоциированных с выработкой антител к собственным антигенам подоцитов. Проводились исследования, посвященные влиянию таких генов, как ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1) [15], фактор некроза опухоли α (TNF- α) [4, 109], металломембранная эндопептидаза (ММЕ) [25], фактор комплемента В подтип FA (FB * FA) [71], МНС II класса [119] на развитие ИМН.

Учитывая известные в настоящее время звенья патогенеза ИМН интерес составляет изучение полиморфизмами в гене PLA2R, расположен в хромосоме

2q23-q24 [1], а также изучения полиморфизмов главного комплекса гистосовместимости человека (HLA), участвующий в иммунном ответе.

Локус HLA считается самым сложным в геноме человека. Комплекс HLA представлен более чем 220 генами, расположенных на коротком плече бой хромосомы (6p21) [88]. Гены HLA подразделяются на I, II, III классы: I и II классы относят к генам тканевой совместимости и участвуют в представлении антигенов Т-клеткам, а III класс детерминируют компоненты комплемента C2 и C4, фактор некроза опухоли, лейкотриены, белки теплового шока. Как уже было сказано выше, основная функция генного комплекса HLA класса II заключается в кодировании белков главного комплекса гистосовместимости и представление антигенов в основном Т-лимфоцитам. Размножение Т-хелперных клеток, в свою очередь, стимулирует В-лимфоциты высвобождать антитела к специфическим антигенам. Гены HLA II класса носят названия DP (A и B), DQ (A и B) и DR (A и B), молекулы которых представлены двумя цепями - альфа и бета, которые соответственно кодируются двумя вариантами генов A и B (Рисунок 1.3).

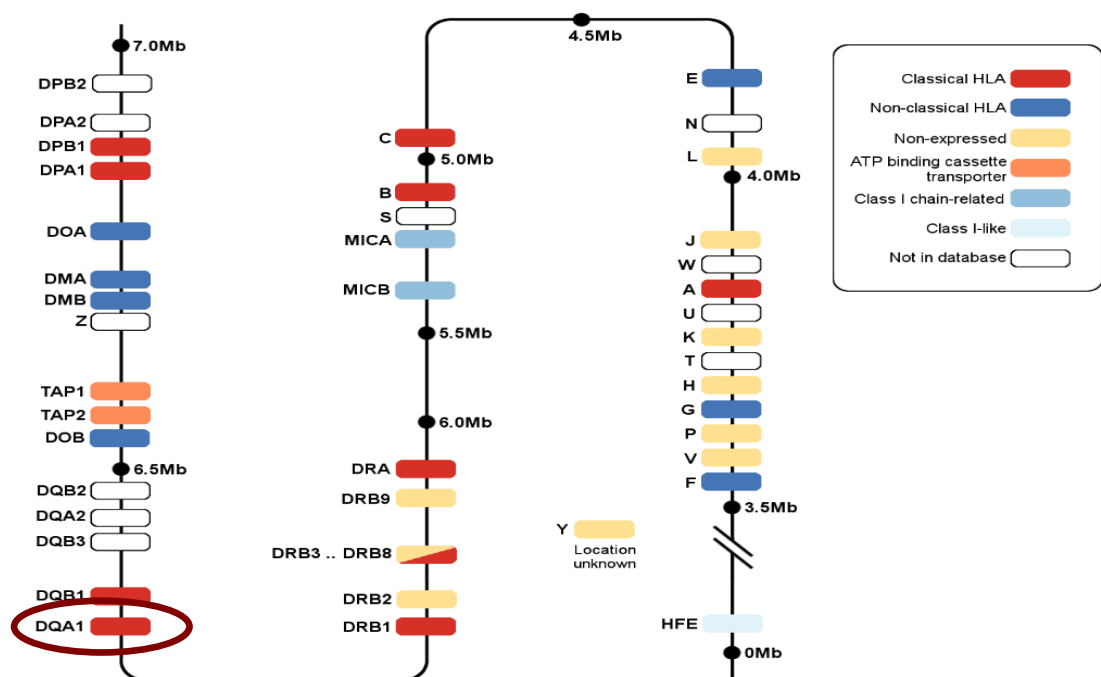


Рисунок 1.3 – Карта регионов HLA (<http://hla.alleles.org/alleles/index.html>)

Генам А HLA свойственна более низкая степени полиморфизма: в общей популяции аллельных вариантов гена HLA-DPA 28, HLA-DRA - 3, HLA-DQA – 35 [134, 137, 138]. Гены HLA являются основными элементами в регулировании специфических иммунных реакций, и таким образом они могут представлять собой генетическую маркерную систему, которую можно использовать для исследования патогенеза, особенности течения и прогноза болезней, связанных с вовлечением компонентов иммунитета [105].

В 1979 г. в журнале *Lancet* были опубликованы результаты работы P.T. Klouda и соавт., в которой было показано статистически значимое увеличение частоты генотипа HLA-DRW3 в группе больных ИМН по сравнению с контрольной группой [52]. В дальнейшем R.W. Vaughan показали сильную ассоциацию HLA-DQA1 с развитием ИМН в британской популяции [118].

Первыми, кто проанализировал взаимосвязь развития ИМН и полиморфизмов гена PLA2R1 стали Y.H. Liu и соавт., которые исследовали два полиморфных маркера rs6757188 (C/T) в интроне 12 и rs35771982 (C/G) в экзоне 5, кодирующий второй CTLD, у 129 китайцев с ИМН. Авторы показали статистическое значимое различие между пациентами с ИМН и контрольной группой лишь для полиморфного маркера PLA2R1 (rs35771982): риск развития ИМН увеличивался почти в 2 раза у носителей аллеля G и в 6 раз у носителей генотипа G/G [61].

Одновременно с вышеописанным исследованием были опубликованы данные корейских авторов, где сравнивались больные ИМН (n = 199), с вторичной МН (n=33) и контрольной группой (n = 356). Была выявлена ассоциация исследованных ранее полиморфного маркера rs35771982 и нового rs3828323 гена PLA2R1 с предрасположенностью к ИМН. Обращал на себя внимание что пациенты с вторичной МН по частоте аллелей и генотипу не отличалась от контрольной группы [51].

Поскольку оба исследованных полиморфизма rs35771982 и rs3828323 расположены в кодирующих регионах гена PLA2R1 (экзонах 5 и 24

соответственно) и им соответствуют полиморфизмы аминокислотной последовательности в первом CTLD и линкерном регионе, связывающем шестой и седьмой CTLD PLA2R соответственно, было высказано предположение о том, что точечные (однонуклеотидные) замены могут привести к изменению конформации аутоантигена PLA2R и повлиять на его связывание с антителами (Рисунок 1.1).

В пользу этой гипотезы свидетельствовали ранее проведенные исследования, показавшие, что сами полиморфизмы могут влиять на функцию PLA2R, и что фосфолипаза A2 связывается с PLA2R через один из CTLD [63]. Таким образом, точечные мутации могут оказывать влияние на связывание фосфолипазы A2 со своим рецептором.

В 2011 г. завершилось большое исследование, в котором провели анализ независимых общегеномных ассоциаций (genomewide association study, GWAS) однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) у пациентов с идиопатической мембранозной нефропатией из трех европейских популяций (75 пациентов из Франции, 146 пациентов из Голландии и 335 пациентов из Англии). Stanescu и соавт. продемонстрировали, что у 75 французских случаев ИМН была обнаружена статистически значимую ассоциацию с аллелем HLA-DQA1 (rs2187668). Данных по 146 голландским и 335 британским случаям показали статистически значимую ассоциацию не только с аллелями HLA-DQA1 (rs2187668), но и с аллелями PLA2R1 (rs4664308) [106]. При этом комбинация неблагоприятных генотипов исследуемых полиморфных маркеров приводило к увеличению риска развития ИМН примерно в 80 раз. Описание этих генетических ассоциаций имеет важное значение. Во-первых, данные, полученные в исследовании, указывают на возможность того, что вариации последовательности в пределах HLA и PLA2R1 частично ответственны за развитие ИМН в европейской популяции. Во-вторых, подтверждает данные, полученные в исследовании L.H. Veck и соавт. о том, что PLA2R ассоциировано с развитием ИМН [7].

На основании данных Н.С. Stanescu и соавт. GWAS и работ, посвящённые редким вариантами полиморфизмов [101], было выполнено исследование J.H. Coenen и соавт., в котором были изучены редкие в общей популяции варианты SNP PLA2R1. Исследование включало 95 пациентов (европейская популяция) с ИМН. В результате идентифицировано 18 полиморфизмов гена PLA2R1 (2 новых, 7 редких и 9 широко распространённых), из которых 6 часто встречающихся полиморфизмов (rs2715918, rs35771982, rs3749117, rs3749119, rs3828323, rs4665143) оказались ассоциированы с развитием ИМН. У 9 пациентов были идентифицированы редкие варианты и только у 4 из этих больных обнаружены анти-PLA2R-АТ. В итоге исследователи пришли к выводу, что патогенез ИМН, по-видимому, не связан с носительством редких полиморфизмов в кодирующей последовательности гена PLA2R1. Авторы так же выдвинули несколько гипотез, почему, несмотря на широкую распространенность в популяции аллелей гена PLA2R1, ассоциированных с повышенным риском развития МН, это заболевание по-прежнему остается редким. По их мнению, редкость ИМН может быть связана с тем, что частые варианты могут формировать гаплоблоки - редко встречающиеся комбинации, обуславливающие предрасположенность к ИМН, или с тем, что для развития заболевания необходимо сочетание аллелей риска более чем одного гена-кандидата [16].

Y.H. Lv и соавт. из Пекинского университета впервые оценили взаимодействие генов PLA2R1 и HLA-DQA1. Были исследованы PLA2R1 (rs35771982, rs3749117 и rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668), которые значимо ассоциировались с развитием ИМН в китайской популяции. Однако в отличие от европейцев у китайских пациентов риск ИМН, обусловленный гомозиготным носительством аллелей риска полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1, оказался намного ниже (в 2 раза и почти в 2,5 раза соответственно). При анализе взаимодействия генов отмечалось увеличение риска развития ИМН в 11 раз при носительстве

комбинации генотипа A/A PLA2R1 (rs4664308) (аллель риска A) и генотипов A/A и G/A HLA-DQA1 (rs2187668) (аллель риска A) [62].

Подобные исследование G. Bullich и соавт. провели в испанской популяции, проведя исследования SNP в генах HLA-DQA1 (rs2187668) и PLA2R1 (rs4664308) у 89 пациентов с ИМН. Это исследование подтвердило ассоциацию этих полиморфных маркеров с ИМН и увеличение риска развития ИМН при сочетании обоих «аллелей риска» в 7 раз [12].

В 2014 г. было проведено крупное исследование M. Saeed и соавт., в котором исследовали полиморфизмы генов PLA2R1 (rs1511223, rs3828323, rs6757188, rs17830307, rs35771982 и rs3749117) и HLA-DQA1 (rs2187668) в двух группах пациентов: с положительными и отрицательными АТ к PLA2R. При этом на тот момент исследователи собрали самую большую когорту PLA2R-позитивных ИМН и составляла 530 пациентов. В эту когорту входили пациентов европеоидной и негроидной расы. Результаты исследования, сравнивавшее PLA2R-позитивную группу и группу контроля, показали, что только полиморфный маркер rs35771982 из всех исследуемых полиморфизмов гена PLA2R1 повышал риск развития ИМН у представителей европеоидной расы. При сравнении PLA2R-позитивных и PLA2R-негативных пациентов ассоциация PLA2R1 (rs35771982) несколько уменьшилась, но продолжала быть значимой. При добавлении в анализ группу с представителями негроидной расы уменьшала силу связи PLA2R1 (rs35771982) с развитием ИМН, что демонстрирует, что варианты PLA2R1 преимущественно влияют у представителей европеоидной расы. Обращало на себя внимание, что при сравнении PLA2R-негативных пациентов с группой контроля не было обнаружено какой-либо связи PLA2R1 (rs35771982) с развитием ИМН у данной группы пациентов, что указывает на сильную связь выработки АТ к PLA2R и полиморфизмом в гене PLA2R1. Так же было показано, что при взаимодействии между HLA-DQA1 и PLA2R1 увеличивается риск развития ИМН в 13 раз [95].

В работе P. Sekula и соавт. были проведены GWAS среди 323 больных ИМН и 345 группой контроля в европейской популяции. Были охарактеризованы ассоциации еще не исследованных генов PLA2R1 (rs17830558) и HLA-DQA1 (rs9272729), которые увеличивали риск развития ИМН в 2 раза и в 7 раз соответственно, отличительной чертой этого исследования стало дополнительное исследование вышеуказанных полиморфизмов и других вариантов поражения почек. PLA2R1 (rs17830558) был специфичен для ИМН, а вот HLA-DQA1 (rs9272729) помимо ИМН увеличивал риск развития МН в рамках системной красной волчанки в 3 раза, поражение почек в рамках диабета I типа почти в 3 раза и фокально-сегментарного гломерулосклероза (ФСГС) почти в 2,5 раза даже после исключения пациентов со вторичными формами ФСГС [102].

В 2016 году японские исследователи оценили риск развития ИМН на своей популяции, связанный с полиморфными маркерами rs1511223, rs35771982, rs10196682, rs877635, rs21715928, rs16844715 и rs37449119 гена PLA2R1, а также в полном объеме типировали ген HLA. Только 5 из 7 исследуемых полиморфных маркеров гена PLA2R1 были значимо ассоциированы с развитием ИМН: rs37449119 увеличивал риск развития ИМН в 1,5 раза, rs16844715 – в 2 раза, а rs35771982, rs21715928 и rs37449119 – в 2,5 раза. Что касемо гена HLA были выявлены новые гены-кандидаты: DRB1*15:01, увеличивший риск развития ИМН в 3 раза, и DQB1*06:02, увеличивший риск развития ИМН в 3,5 раза. Как и в ранее описанных работах комбинации генов HLA и PLA2R1, исследованных японскими авторами, значительно увеличивали риск развития ИМН, что подтверждает ранее выдвинутую гипотезу о важной роли комбинации особенности иммунного ответа и конформации PLA2R в патогенезе заболевания [110].

В работе R. Ramachandran и соавт. у 114 пациентов ИМН и 95 здоровых добровольцев было идентифицировано шесть полиморфных маркеров: 5 гена PLA2R1 (rs4664308, rs3749119, rs3749117, rs4664308, rs3828323) и 1 гена HLA-

DQA1 (rs2187668). Почти все полиморфные маркеры (кроме rs3749117) показали ассоциацию с предрасположенностью к ИМН, причем наибольший риск развития заболевания был у носителей генотипов A/A полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 и составил 2,8. При анализе комбинации полиморфных маркеров rs2187668 гена HLA-DQA1 и rs4664308 гена PLA2R1 отмечено увеличение риска развития ИМН в 58 раз [83].

Недавно была опубликована работа Kaga и соавт., в которой было проанализированы ассоциации практически всех вышеупомянутых полиморфных маркеров как с идиопатической, так и с вторичной МН. Были выявлены статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов трех полиморфных маркеров гена PLA2R1 (rs3749117, rs35771982 и rs2715918) и аллелей полиморфного маркера гена HLA-DQA1 (rs2187668) у пациентов с ИМН и лиц из контрольной группы. При анализе ассоциация вышеуказанных полиморфизмов и вторичной МН связи с ее развитием выявлены не были [45].

В 2017 г. группа китайских ученых под руководством Z. Cui провели крупное исследование, проанализировав 261 пациента с ИМН и 599 группу контроля, по результатам которого была выявлена ассоциация развития ИМН с аллелями DRB1*1501, DQB1*0602 и DQA1*0102 [21]. Эти результаты сопоставимы с результатами, полученными в японской популяции в предшествующих исследованиях [34, 73], тогда как в европейской популяции аллель DRB1*1501 не был связан с развитием ИМН [52, 74].

1.4.3. Значение полиморфных маркеров генов PLA2R1 в течении идиопатической мембранозной нефропатии

Помимо влияние полиморфных маркеров на развитие ИМН велись исследования, направленные на изучение взаимосвязи изменения генов с особенностью течения ИМН, такие как скорость прогрессирования, выраженность заболевания, и в том числе ответ на лечение. Изучение вклада

гена PLA2R1 и HLA-DQA1 в развитие ИМН проводилось параллельно с выявление ассоциации идентифицированных в нем полиморфизмов и особенностью течения ИМН. Так, в работе, которая упоминалась ранее, Liu и соавт. было показано, что выявленные полиморфных аллелей C/T (rs6757188) и C/G (rs35771982) гена PLA2R1 были ассоциирован с более низкой частотой ремиссий ИМН при проведении адекватной иммуносупрессивной терапии. Статистически значимой взаимосвязи при исследовании этих же полиморфизмов с клиническими показателями, морфологическими характеристиками и выживаемостью выявлено не было [61].

В похожей работе выявленные в корейской популяции полиморфные маркеры rs35771982 и rs3828323 гена PLA2R1, связанные с развитием ИМН, не были ассоциированы с достижением комбинированной конечной точки, представляющая собой удвоение исходного уровня креатинина, достижение терминальной почечной недостаточности или наступление смерти [51]. Авторы объяснили это тем, что факторы, которые влияют на течение ИМН, такие как возраст, пол, ПУ и исходный уровень креатинина [99, 103, 112], не различались у пациентов с различными генотипами гена PLA2R1 (rs35771982 и rs3828323), и что данные полиморфизмы более связаны с развитием заболевания, а не его течением.

В дальнейшем последовал ряд работ, в которых изучали вклад генетических факторов в продукцию анти-PLA2R-АТ. Так, в работе D. Kanigicherla и соав. было исследовано 90 больных ИМН (90% пациентов являлись представителями европеоидной расы), у которых установлена ассоциация между носительством аллелей HLA-DQA1*05:01 и HLA-DQB1*02:01 и уровнем анти-PLA2R-АТ. У носителей одного или двух аллелей риска HLA-DQA1 ($p = 0,001$), а также у носителей аллеля HLA-DQB1 ($p = 0,049$) статистически значимо регистрировалась более высокая концентрация антител. Помимо генов HLA-DQA1 авторы исследовали аналогичную корреляцию с полиморфизмами гена PLA2R1 (rs3749117 и

rs4664308). По результатам исследования группы, выделенных в зависимости от аллелей данных полиморфизмов, значимо не различались, однако, наблюдалась тенденция к некоторому повышению концентрации анти-PLA2R-АТ у носителей генотипа А/А по сравнению с пациентами с генотипами А/Г и Г/Г ($p = 0,08$) [46].

В описанной ранее работе J. Lv и соавт. оценили уровни анти-PLA2R АТ в группах больных ИМН с «протективными» генотипами и генотипами «высокого риска» генов PLA2R1 и HLA-DQA1 (rs2187668) ($n = 71$, все пациенты – представители китайской популяции). Выяснилось, что у носителей «протективных» генотипов гена PLA2R1, к которым относятся генотип С/С в rs35771982, генотип С/С в rs3749117 и генотипа Г/Г в rs4664308, анти-PLA2R АТ обнаруживались только в 4% случаев, в то время как у больных-носителей генотипов «высокого риска», к которым относятся Г/Г в rs35771982, Т/Т в rs3749117 и А/А в rs4664308, частота выявлена АТ составила 74%. Так же, проанализировав полиморфный маркер rs2187668 гена HLA-DQA1, были получены результаты, согласно которым анти-PLA2R АТ присутствовали у 40% пациентов с «протективным» генотипом и у 65% у больных с генотипом «высокого риска». Более того, отмечалось повышение титров анти-PLA2R-АТ при сочетании генотипов «высокого риска» в 73% случаев, и, наоборот, отсутствие данных АТ у пациентов с сочетанием «протективных» генотипов. В своей работе авторы показали, что экспрессия PLA2R в клубочках почек зависела от варианта генотипа так же как от этого зависел титр АТ к PLA2R. По полученным данным экспрессию PLA2R обнаружили у 8% и 76% больных с «протективными» генотипами и генотипами «высокого риска» гена PLA2R1 соответственно и у 40% и 69% пациентов с «защитным» генотипом и генотипом «высокого риска» гена HLA-DQA1 соответственно; у носителей сочетания генотипов «высокого риска» по обоим генам экспрессия PLA2R в клубочках обнаруживалась в 75% случаев. Резюмируя, авторам впервые удалось продемонстрировать, что носительство «аллелей риска» четко ассоциируются с повышением титром анти-PLA2R-АТ

и экспрессией PLA2R в клубочках почек, подтвердив гипотезу о том, что сочетание генотипов «высокого риска» PLA2R1 и HLA-DQA1 у одного индивидуума может приводить к сбою в работе жестко регулируемой адаптивной иммунной системы и способствовать развитию ИМН [62].

В работе испанских авторов была проанализирована ассоциация вариантов генов PLA2R1 и HLA-DQA1 с ответом на иммуносупрессивную терапию [12]. На основании полученных ими данных было установлено, что генотип A/A или G/A полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 и генотип A/A полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1, которые ассоциировались с повышенном риском развития ИМН, являлись независимыми предикторами ответа на иммуносупрессивную терапию, однако, ассоциации с видом иммуносупрессивной терапии, возрастом, полом больных и исходным уровнем креатинина установлено не было. Одновременно с этим у больных-носителей генотипа A/A или G/A полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 выживаемость без достижения уровня исходного креатинина была выше, чем у носителей гомозиготного аллеля G/G (16,3 и 13,0 лет соответственно; лог-ранк-тест $p=0,05$), в тоже время ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 с выживаемостью отсутствовала. Авторы выдвинули гипотезу, что большая эффективность иммуносупрессивной терапии у носителей генотипа «высокого риска» может быть обусловлена более выраженным снижением титра АТ к PLA2R, когда как низкая вероятность ответа на лечение у больных с «протективными» генотипами могут быть объяснены тем, что развитие ИМН в этой группе связано с другими факторами (генетические и/или факторы окружающей среды).

В 2016 году М. Thiri и соавт. проанализировали ассоциацию полиморфных маркеров rs1511223, rs35771982, rs21715928, rs16844715 и rs37449119 гена PLA2R1 и DRB1*15:01 и DQB1*06:02 гена HLA с исходом ИМН. Даже с учетом того, что данные SNP увеличивали риск развития ИМН,

а при их комбинации риски увеличивались до 17,5 раз, они не были связаны с общей и почечной выживаемостью [110].

R. Ramachandran и соавт. исследовали полиморфный маркер rs2187668 гена HLA-DQA1 и различные варианты локусов гена PLA2R1 и их связь с наличием анти-PLA2R-АТ. У 114 больных ИМН была обнаружена взаимосвязь между аллелем А гена HLA-DQA1 и высокими титрами АТ к PLA2R, однако, ассоциации титров АТ и вариантов локусов генов PLA2R обнаружено не было [83].

В работе китайских авторов, выполненная в 2017 году, была показана связь изменения аминокислотных остатков ALA71 и ARG13, кодируемых HLA-DRB1*1501 и HLA-DRB1*0301 (rs2187668 в европейской популяции) с наличием циркулирующих анти-PLA2R АТ [21].

Резюмируя полученные данные за последние 40 лет, как видно из таблицы 1.1 и 1.2, по результатам многочисленных исследований ученые придерживаются мнения, что PLA2R1 и HLA-DQA1 играют важную роль в развитии ИМН.

Таблица 1.1 – Наиболее значимые SNP гена HLA-DQA1, играющие роль в развитии ИМН по данным литературы

SNP	Аллель	ОШ (95% ДИ)	Популяция	Ссылки
rs2187668	G/A	4,48 (2,68-7,50)	Французы	106
		3,76 (2,92-4,86)	Голландцы	
		5,33 (4,04-7,02)	Британцы	
		2,42 (1,93-3,05)	Китайцы	62
		3,88 (2,34-6,42)	Испанцы	12
		3,03 (2,50-3,85)	Европеоиды	95
		2,17 (1,67-1,96)	Афро-американцы	
		5,26 (3,11-8,88)	Индусы	83
		-	Японцы	45
		3,96 (нет данных)	Японцы	21
rs9272729	A/G	7,29 (4,82-11,04)	Британцы	102

Таблица 1.2 – Наиболее значимые SNP гена PLA2R1, играющие роль в развитии ИМН по данным литературы

SNP	Аллель	ОШ (95%ДИ)	Популяция	Ссылки
rs35771982	G/C	1,90 (1,21-2,99)	Китайцы	61
		2,6 (1,82-3,80)	Корейцы	51
		2,36 (2,03-2,74)	Китайцы	62
		1,98 (1,67-2,36)	Европеоидная	95
		1,74 (1,05-2,88)	Афро-американцы	
		2,57 (1,84-3,58)	Японцы	110
		2,77 (1,60-4,70)	Индусы	83
rs4664308	A/G	-	Японцы	45
		1,87 (1,20-2,92)	Французы	106
		2,27 (1,73-2,97)	Голландцы	
		2,10 (1,67-2,64)	Британцы	
		2,35 (2,02-2,73)	Китайцы	62
		2,13 (1,27-3,57)	Испанцы	12
rs3828323	C/T	2,76 (1,56-4,87)	Индусы	83
		-	Британцы	16
		-	Корейцы	51
		1,56 (1,32-1,85)	Европеоиды	95
rs3749119	C/T	2,20 (1,26-3,86)	Индусы	83
		-	Британцы	16
		2,61 (1,86-3,66)	Японцы	110
		2,86 (1,25-6,52)	Индусы	83
rs3749117	T/C	2,32 (2,00-2,69)	Китайцы	62
		-	Британцы	16
		1,95 (1,64-2,32)	Европеоиды	95
		1,65 (1,05-2,60)	Афро-американцы	
		-	Японцы	45

Так же, существует мнение, что полиморфизмы в генах PLA2R1 и HLA-DQA1 ассоциированы с выработкой АТ к PLA2R и влияют на течение и исход ИМН (Таблица 1.3).

Таблица 1.3 – Наиболее значимые SNP, играющие роль в клинической картине и течение ИМН по данным литературы.

Ген	Генотип	Связь с клиникой	Ссылки
PLA2R1 (rs6757188)	C/T	носительство «аллелей риска» связано с более низкой частотой ремиссии ИМН при проведении адекватной иммуносупрессивной терапии	61
PLA2R1 (rs35771982)	C/G		
PLA2R1 (rs4664308)	A/G	носительство «аллелей риска» ассоциируются с повышением титром анти-PLA2R-АТ и экспрессией PLA2R в клубочках почек	62
HLA-DQA1 (rs2187668)	G/A	носительство «аллелей риска» ассоциируются с повышением титром анти-PLA2R-АТ и экспрессией PLA2R в клубочках почек	62
		у генотипа A/A или G/A выживаемость без достижения уровня исходного креатинина была выше, чем у носителей гомозиготного аллеля G/G	12
		носительство «аллелей риска» ассоциируются с повышением титром анти-PLA2R-АТ	21

Для понимания более тонких механизмов развития ИМН, необходимы дальнейшие исследования, направленные на уточнения нашего представления о течения заболевания, выявление других возможных «неблагоприятных» и «протективных» генотипов и с их помощью стратифицировать риск развития и прогрессирования ИМН, попытаться спрогнозировать ответ на иммуносупрессивную терапию. Так же в последующих исследованиях необходимо учитывать расовые различия, которые могут влиять на степень риска ИМН, определять различный вклад тех или иных генетических факторов в патогенез, а также учитывать взаимодействия между уже выявленными аллелями/генотипами риска и теми, которые будут обнаружены в будущем.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на базе клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева Университетской клинической больницы № 3 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Структура исследования представлена на рисунке 2.1.



Рисунок 2.1 - Структура исследования

2.1. Характеристика исследованных групп

Всего было исследовано 210 человек, которые были разделены на следующие группы:

- в первую группу (основная группа) входили 70 человек - пациентов с установленным диагнозом ИМН, которые наблюдались в клинике ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева Университетской клинической больницы № 3 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) в 8-летний период (с 2011 по 2019 гг.);

- во вторую группу (группы контроля) входило 40 человек с другими морфологическими вариантами хронического гломерулонефрита и 100 человек - здоровых доноров.

Диагноз ИМН выставлялся на основании критериев, отраженных в клинических рекомендациях по диагностике и лечению мембранозной нефропатии [72].

2.2. Характеристика обследованных больных идиопатической мембранозной нефропатией

Было обследовано 70 больных с ИМН, включавших 40 мужчин (57,1%) и 30 женщин (42,9%).

Оценка клинических особенностей проводилась у 62 пациентов по данным медицинской документации в момент наблюдения и ретроспективно на основании архивных материалов клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева Университетской клинической больницы № 3 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). Она включала анализ дебюта ИМН, выраженность нефротического синдрома, артериальной гипертензии, морфологической стадии ИМН, нарушение функции почек на момент установления диагноза (Таблица 2.1).

Таблица 2.1 – Больные, включенные в анализ клинических особенностей ИМН

Показатели		n	Показатели		n
Дебют	Пол	70	Функция почек	Креатинин	58
	Возраст	60		СКФ	56
	Частота НС	62		Стадии ХБП	56
НС	СПУ	56		Стадии МН	46
	Общий белок	56	АГ	САД	59
	Альбумин	55		ДАД	59
	Холестерин	48		Степени АГ	61

Возрасте на момент начала заболевания был оценен у 60 человек и находился в пределах от 15 до 77 лет (средний возраст $46,6 \pm 15,1$ лет). Для анализа пациенты были разделены на 2 группы: пациенты моложе 50 лет (32 пациента – 53,3%) и старше 50 лет (28 пациентов – 46,7%).

Частота развития НС (ПУ более 3,5 г/сут в сочетании со снижением уровня альбумина менее 35 г/л) в дебюте заболевания оценивалось у 62 пациентов. У большинства больных заболевания манифестировало с НС (85,5%), а у 14,5% - с мочевого синдрома (МС) (ПУ и/или гематурия различной степени выраженности без гипоальбуминемии).

Средний возраст на момент биопсии почки составил $47,3 \pm 14,5$ лет. Время, прошедшее от первых клинических проявлений ИМН до выполнения пункционной биопсии почки, было оценено у 56 человек, медиана составляла 7,4 месяца (8,5 - 20,2). При этом у 50 пациентов (89,3%) пункционная биопсия была проведена в первый год, а у 6 пациентов (10,7%) длительность заболевания до выполнения пункционной биопсии составила больше года.

Выраженность нефротического синдрома оценивалась по уровню СПУ, общего белка, альбумина и холестерина крови. Основные клинические характеристики НС представлены в таблице 2.2.

Таблица 2.2 - Характеристики выраженности НС у пациентов с ИМН

Показатели	п	Значения
СПУ, г	56	4,9 (4,7; 6,5)
Общий белок, г/л	56	46,0 (44,5; 49,6)
Альбумин, г/л	55	25,0 (22,8; 26,6)
Холестерин, ммоль/л	48	8,6 (8,3; 10,0)

Так же для анализа уровня СПУ пациенты были разделены на 2 группы: с ПУ менее 4 г/сут (19 больных – 33,9%) и с ПУ 4 и более г/сут (37 больных – 66,1%). ПУ более 4 г/сут является одним из критериев среднего и высокого риска прогрессирования МН.

Критериями артериальной гипертензии (АГ) являлись уровень систолического АД > 140 мм рт.ст. и/или уровень диастолического АД > 90 мм рт.ст. до назначения антигипертензивных препаратов. Средние показатели САД и ДАД в мм рт.ст. представлены в таблице 2.3.

Таблица 2.3 - Характеристики выраженности АГ у пациентов с ИМН

Показатели	n	Значения
САД, мм рт.ст.	59	130,0 (110; 200)
ДАД, мм рт.ст.	59	80,0 (70; 100)

При уровне АД 140-159/90-99 мм рт.ст артериальную гипертонию считали мягкой (I степень), при уровне 160-179/100-109 мм рт.ст. — умеренной (II степень), при уровне АД $> 180/110$ мм рт.ст. АГ – тяжелой (III степень). Синдром АГ при ИМН встречался у 35 больных (57,4%) из 61. Среди них у 14 (40,0%) пациентов АГ соответствовала I степени, у 12 (34,3%) – II степени, и у 9 (25,7%) – III степени (Рисунок 2.2).

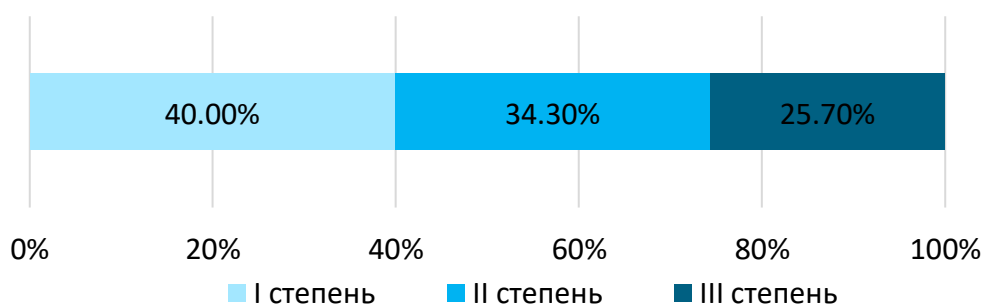


Рисунок 2.2 - Распределение больных с ИМН в зависимости от степени артериальной гипертензии

Среди пациентов с III степенью АГ все пациенты были старше 45 лет и имели нарушение функции почек, соответствующее 2 ($n=3$, 33,3%) и 3 ($n=6$, 66,7%) стадии ХБП.

Нарушение функции почек определяли при значении расчетной скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле СКD-EPI ниже 60 мл/мин. Указанные показатели регистрировались на момент выполнения пункционной биопсии почки и было известно у 56 пациентов (Таблица 2.4).

Таблица 2.4 – Характеристики выраженности нарушения функции почек у пациентов с ИМН

Показатели	n	Значения
СКФ, мл/мин/1,73м ²	56	81,5 (77,9; 91,1)
Креатинин, мкмоль/л	56	88,3±24,6

Распределение больных по стадиям ХБП выглядело следующим образом: у 24 (42,9%) нарушение функции почек соответствовало 1 стадии ХБП, у 19 (33,9%) – 2 стадии ХБП, и у 13 (23,2%) – 3 стадии ХБП (Рисунок 2.3).

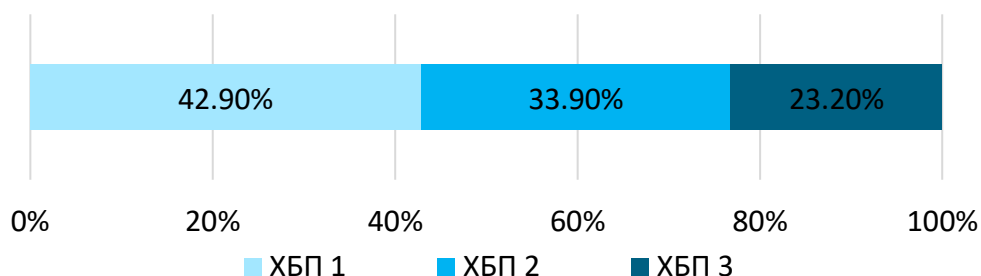


Рисунок 2.3 – Распределение больных ИМН в соответствии со стадией ХБП

По данным морфологического исследования биологического материала, полученного при пункционной биопсии почки, морфологическая стадия МН была определена у 46 пациентов. Распределение больных по стадиям выглядело следующим образом: МН I стадии – 6 человек (13,1%) , МН II стадии – 30 человек (65,2%), МН III стадии – 10 человек (21,7%) (Рисунок 2.4).

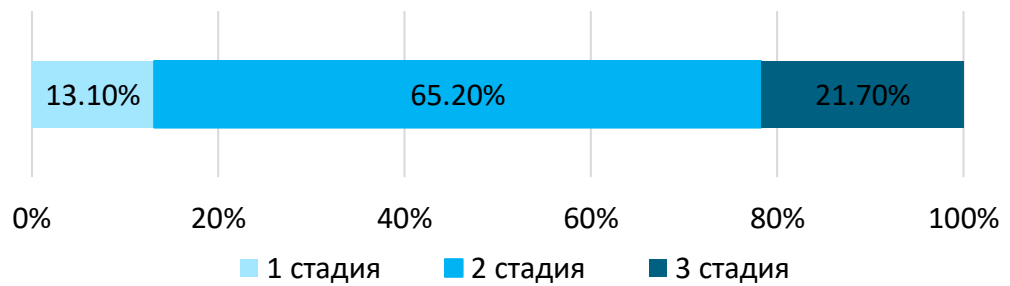


Рисунок 2.4 – Распределение больных с ИМН в зависимости от морфологической стадии МН

Уровни АТ к PLA2R определяли иммуноферментным методом с помощью коммерческой тест-системы компании Euroimmun (Германия). Титры АТ к PLA2R $<1:10$ рассматривали как референсные значения [38]. Из 34 больных, с исследованными до начала лечения АТ, у 8 пациентов (23,5%) были отрицательные АТ к PLA2R, а у 26 пациентов (76,5%) – положительные.

Для анализа пациенты с положительными АТ к PLA2R были разделены на 2 группы, в зависимости от титров:

- от 1:10 до 1:40 – 8 человек (30,8%);
- от 1:80 до 1:640 – 18 человек (69,2%).

У 36 пациентов был отслежен ответ на лечение, у 9 пациентов (25,0%) отсутствовал ответ на иммуносупрессивную терапию (ИСТ), у 27 пациентов (75,0%) наступила частичная или полная ремиссия. Эффективность иммуносупрессивной терапии оценивали через 6 месяцев после начала лечения по следующим критериям:

- полной ремиссии НС считалось снижение ПУ до уровня $<0,2$ г/сут и повышение уровня альбумина >35 г/л;
- частичной ремиссии НС – снижение ПУ $<0,2-2,0$ г/сут, определенных по крайней мере при трех последовательных исследовании мочи, и стабильная СКФ (изменение креатинина $<25\%$) или снижение ПУ до уровня $<0,2-3,5$ г/сут и снижение $>50\%$ от исходного уровня, стабильная СКФ (изменение креатинина $<25\%$);

- отсутствие ответа на ИСТ - отсутствие значительного и/или устойчивого снижения уровня протеинурии (протеинурия более 3,5 г/л) и/или тяжелое ухудшение функции почек.

Все пациенты получали иАПФ или БРА в качестве нефропротективной терапии. Из 36 пациентов на момент наступления полной или частичной ремиссии или на момент последнего обследования при отсутствии ответа 13 пациентов (36,1%) получало сочетание циклофосфана (ЦФА) с преднизолоном (ПЗ) в виде «пульс»-терапии, 16 пациентов (44,4%) - циклоспорин А (ЦсА), 5 пациентов (13,9%) – микофенолата мофетил (МФМ) и 2 пациента (5,6%) – ритуксимаб (Рисунок 2.5).

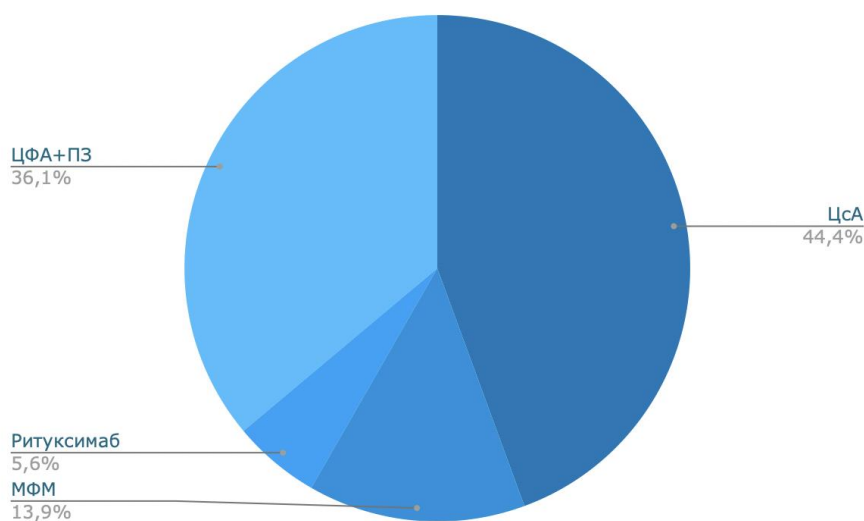


Рисунок 2.5 – Распределение больных с ИМН в зависимости от получаемой ИСТ

Продолжительность заболевания в течение периода наблюдения с момент появления признаков нефропатии составила $44,4 \pm 41,5$ мес. При оценке прогрессирования почечной дисфункции исходом под прогрессированием мы понимали переход пациентов с 1 и 2 стадией ХБП в 3-5 стадии, а 3 стадию ХБП в 4 и 5 стадии в срок 49,2 месяца (от 11 до 120 месяцев). Из 53 у 14 пациентов (26,4%) отмечено прогрессирование почечной дисфункции (Рисунок 2.6).

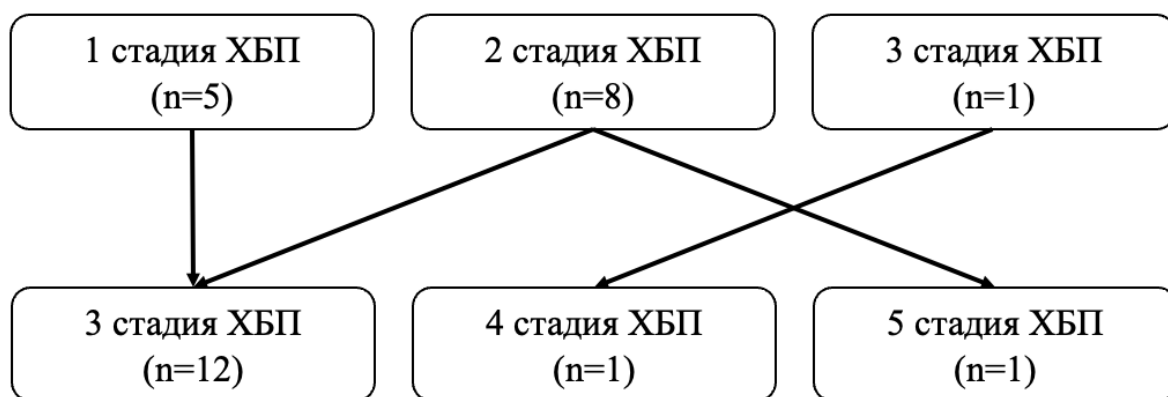


Рисунок 2.6 – Схема прогрессирования почечной дисфункции у исследуемых пациентов

2.3. Характеристика контрольных групп

Для исследования были исследованы 2 когорты больных. В первую когорту входило 100 человек здоровых доноров, во вторую – входило 40 человек с другими ХГН, включавших 14 человек с мезангиопролиферативными гломерулонефритом (МПГН), 8 человек с БМИ, 8 больных с мезангиокапиллярным гломерулонефритом (МКГН), 5 пациентов с ФСГС, 3 пациент с нефросклерозом в исходе ХГН, 1 пациент с С3-нефропатией, 1 человек с болезнью тонких мембран (Рисунок 2.7).

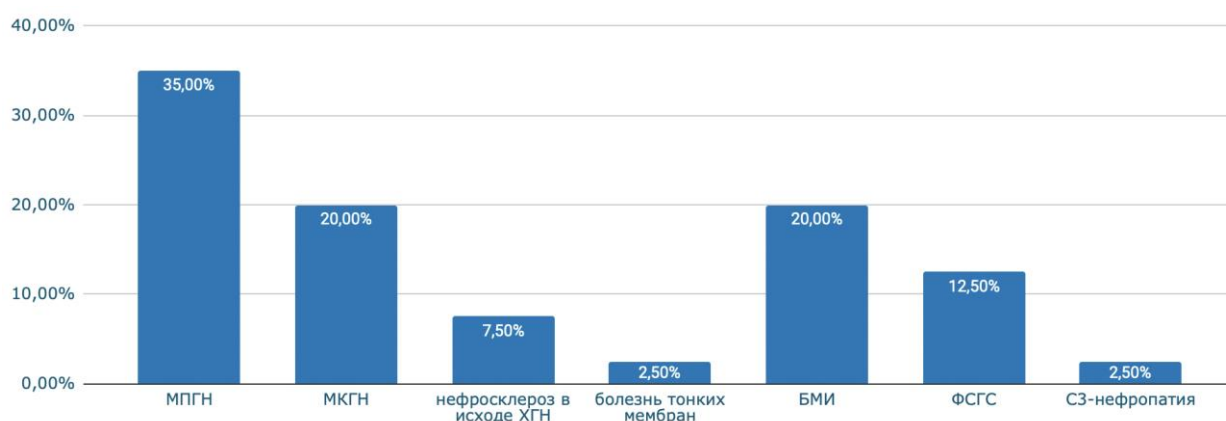


Рисунок 2.7 – Распределение хронических заболеваний почек в группе контроля

2.4. Методы обследования больных

Общеклиническое обследование больных, проводилось в клинике ревматологии, нефрологии и профпатологии им. Е.М. Тареева Первого Московского государственного университета им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет).

Синтез праймеров для полиморфных маркеров HLA-DQA1 (rs2187668) и PLA2R1 (rs4664308), выделение ДНК из биоматериала и проведение полиморфной цепной реакции (ПЦР) исследований проводилось в сотрудничестве с компанией «Синтол» (г. Москва, ул. Тимирязевская, д.42).

Выделение геномной ДНК

ДНК выделялась набором российской фирмы "ДНК-Экстрэн", метод основан на лизисе лейкоцитов с использованием додецилсульфат натрия (SDS), и последующим осаждением ДНК с использованием ацетата калия и изопропанола.

Для определения полиморфизмов использовался метод полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ) с использованием аллель-специфичных TagMan-зондов (Таблица 2.5).

Таблица 2.5 – Исследованные полиморфные маркеры

Ген	Праймеры	Генотипы
PLA2R1 rs4664308	PLA2R1-up TCC ACA GGA GCA ATT TTC TGA; PLA2R1-low GGC TTA ATC AGG GGC AGG TA; PLA2R1-wt (FAM)-ttggtcactttagaAtaagaatggt-(RTQ1); PLA2R1-m (R6G)-accattcttaCtctaaagtgaccaa-(BHQ2).	A/A
		A/G
		G/G
HLA-DQA1 rs2187668	HLA-DQA1-F2 TGG CAC AGG TGG GGA GTG; HLA-DQA1-R TCA CTA TTT ACA AAG CTT AGC C; HLA-DQA1-wt (FAM)-agctgagagtaaGtgaggac-(RTQ1); HLA-DQA1-m (R6G)-gctgagagtaaAtgaggacca-(BHQ2).	G/G
		G/A
		A/A

Статистический анализ

Распределение генотипов и анализ частот аллелей и генотипов по исследуемым полиморфным локусам сопоставлялось с рассчитанной частотой по равновесию Харди–Вайнберга. Сравнение частот распределения генотипов и аллелей в исследуемых группах проводили с помощью критерия χ^2 (Пирсона). При сравнении комбинации генотипов с развитием заболевания использовалась логистическая регрессия. При использовании метода бинарной логистической регрессии отношение шансов оценивалось по экспоненте коэффициента регрессии ($\text{Exp } B$). Для оценки ассоциации риска развития заболевания и изучаемого полиморфизма гена рассчитывали отношение шансов (ОШ; Odds Ratio) и 95% доверительный интервал (95%ДИ), при этом ОШ=1 свидетельствовал о том, что риск одинаков для больных с наличием и отсутствием фактора риска, ОШ>1 указывает, что риск увеличен в группе больных с фактором риска по сравнению с больными без фактора риска.

Для протяженных переменных рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение ($\text{mean} \pm \text{SD}$) или медиану, максимум и минимум ($\text{Me} (\text{min}; \text{max})$), в зависимости от соответствия данных нормальному распределению. Достоверность различий для ненормального распределения оценивали с помощью непараметрического теста Манна-Уитни если сравнивались 2 группы и Краскала-Уоллиса, если сравнивалось более 2х групп, и для нормального распределения t-критерий Стьюдента, если сравнивались 2 группы, и ANOVA-теста, если сравнивалось более 2 групп. Для проверки статистической значимости различий частотных показателей использовали критерий χ^2 Пирсона, в случае значений ожидаемого явления было менее 5 использовался точный критерий Фишера. Достоверными считали различия при уровне p менее 0,05; при уровне p больше 0,05, но меньше 0,1 говорили о наличии тенденции.

Для выявления и оценки связей между исследуемыми показателями, применялся непараметрический корреляционный анализ по методу Спирмана. О силе и направленности связи судили по величине r и знаку коэффициента регрессии. Достоверными считали корреляции с $p < 0,05$, а при оценке тесноты связи коэффициента ранговой корреляции r при значении 0,3 и менее – оценивался как показатель слабой тесноты связи; значения более 0,4, но менее 0,7 – показатель умеренной тесноты связи, а значения 0,7 и более – показатель высокой тесноты связи.

Прогрессирование почечной дисфункции оценивали методом Каплана-Майера и регрессии Кокса с учетом времени от начала заболевания (соответствует моменту появления мочевого синдрома) до ухудшения функции почек на одну или более стадии ХБП. Кривые выживаемости разных групп больных сравнивали с помощью теста $\log \text{rank}$. Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета программ Excel (Microsoft, 2013), SPSS Statistics 26.0 (IBM, 2018).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Анализ ассоциации полимерного маркера rs4664308 генов PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с развитием идиопатической мембранозной нефропатии

Для оценки генетической предрасположенности к ИМН сравнили распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 и полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 у 70 пациентов ИМН, 40 пациентов с другими морфологическими вариантами ХГН и 100 здоровых доноров, составивших контрольную группу.

3.1.1. Анализ ассоциации полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 с развитием идиопатической мембранозной нефропатии

В группе больных ИМН по сравнению со здоровыми донорами выявлено статистически значимое увеличение частоты аллеля А (81,4% и 59,5% соответственно) и генотипа А/А (67,1% и 34,0% соответственно) гена PLA2R1 (rs4664308), что ассоциировалось с повышенным риском развития ИМН у носителей аллеля А (ОШ = 2,98, 95% ДИ 1,79-4,98) и генотипа А/А (ОШ = 3,97, 95% ДИ 2,08-7,58) (Таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 в группе больных ИМН и здоровых доноров

Аллель/генотип		ИМН (n=70)	Здоровые доноры (n=100)	ОШ (95% ДИ)	p
Аллели	A, n (%)	114 (81,4)	119 (59,5)	2,98 (1,79-4,98)	< 0,001
	G, n (%)	26 (18,6)	81 (40,5)	0,33 (0,20-0,56)	
Генотипы	A/A, n (%)	47 (67,1)	34 (34,0)	3,97 (2,08-7,58)	< 0,001
	A/G, n (%)	20 (28,6)	51 (51,0)	0,38 (0,20-0,74)	0,326
	G/G, n (%)	3 (4,3)	15 (15,0)	0,25 (0,07-0,91)	0,020

Аналогичные данные получены при сравнительном анализе распределения частот аллелей и генотипов в группах больных ИМН и

пациентов с другими морфологическими вариантами ХГН: в группе ИМН доля носителей аллеля А и генотипа А/А оказалась статистически значимо выше, а носительство данных генетических вариантов увеличивало риск развития ИМН в 2,5 раза (Таблица 3.2).

Таблица 3.2 - Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 в группе больных ИМН и пациентов с другими морфологическими вариантами ХГН

Аллель/генотип		ИМН (n=70)	Другие варианты ГН (n=40)	ОШ (95% ДИ)	Р
Аллели	A, n (%)	114 (81,4)	53 (66,3)	4,62 (1,72-12,39)	0,001
	G, n (%)	26 (18,6)	27 (33,7)	0,22 (0,08-0,58)	
Генотипы	A/A, n (%)	47 (67,1)	17 (42,5)	2,76 (1,25-6,09)	0,010
	A/G, n (%)	20 (28,6)	19 (47,5)	0,44 (0,20-0,99)	0,037
	G/G, n (%)	3 (4,3)	4 (10,0)	0,40 (0,08-1,90)	0,216

Статистически значимых различий в распределении аллелей и генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 в группе пациентов с другими морфологическими вариантами ХГН по сравнению со здоровыми донорами выявлено не было (Таблица 3.3).

Таблица 3.3 - Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 в группе больных другими вариантами ШН и здоровых доноров

Аллель/генотип		Контроль (n=100)	Другие варианты ГН (n=40)	ОШ (95% ДИ)	Р
Аллели	A, n (%)	119 (59,5)	53 (66,3)	1,35 (0,78-2,27)	0,295
	G, n (%)	81 (40,5)	27 (33,7)	0,74 (0,44-1,29)	
Генотипы	A/A, n (%)	34 (34,0)	17 (42,5)	1,44 (0,68-3,04)	0,345
	A/G, n (%)	51 (51,0)	19 (47,5)	0,87 (0,42-1,81)	0,708
	G/G, n (%)	15 (15,0)	4 (10,0)	0,63 (0,20-2,03)	0,435

3.1.2. Анализ ассоциации полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 с развитием идиопатической мембранозной нефропатии

Сравнительный анализ распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 среди больных ИМН и в группе здоровых доноров показал увеличение риска развития ИМН в 5 раз для носителей аллеля А и в 10 раз для генотипа А/А (Таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 в группе больных ИМН и здоровых доноров

Аллель/генотип		ИМН (n=70)	Здоровые доноры (n=100)	ОШ (95% ДИ)	р
Аллели	G, n (%)	107 (76,4)	189 (94,5)	0,19 (0,09-0,39)	< 0,001
	A, n (%)	33 (23,6)	11 (5,5)	5,30 (2,57-10,91)	
Генотипы	G/G, n (%)	49 (70,0)	91 (91,0)	0,23 (0,10-0,54)	<0,001
	G/A, n (%)	9 (12,9)	7 (7,0)	1,96 (0,69-5,54)	0,154
	A/A, n (%)	12 (17,1)	2 (2,0)	10,14 (2,19-46,90)	0,001

При аналогичном анализе в группе больных с ИМН по сравнению с пациентами с другими морфологическими формами ХГН выявлено статистически значимое увеличение частот аллеля А и генотипа А/А, что ассоциировалось с развитием ИМН у носителей аллеля А (ОШ = 4,63, 95% ДИ 1,73-12,40) и генотипа А/А (ОШ=8,06, 95% ДИ 1,01-6,67) (Таблица 3.5).

Таблица 3.5 - Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 в группе больных ИМН и пациентов с другими морфологическими вариантами ХГН

Аллель/генотип		ИМН (n=70)	Другие варианты ГН (n=40)	ОШ (95% ДИ)	р
Аллели	G, n (%)	107 (76,4)	75 (93,8)	0,21 (0,08-0,58)	0,002
	A, n (%)	33 (23,6)	5 (6,3)	4,63 (1,73-12,40)	
Генотипы	G/G, n (%)	49 (70,0)	36 (90,0)	0,26 (0,08-0,82)	0,012
	G/A, n (%)	9 (12,9)	3 (7,5)	1,82 (0,14-2,16)	0,298
	A/A, n (%)	12 (17,1)	1 (2,5)	8,06 (1,01-6,67)	0,018

При сравнительном анализе пациентов с другими морфологическими вариантами ГН и здоровых доноров статистически значимых различий в распределении аллелей и генотипов полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 выявлено не было (Таблица 3.6).

Таблица 3.6 - Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 в группе больных ИМН и здоровых доноров

Аллель/генотип		Здоровые доноры (n=100)	Другие варианты ГН (n=40)	ОШ (95% ДИ)	p
Аллели	G, n (%)	11 (5,5)	5 (6,3)	0,87 (0,29-2,60)	0,807
	A, n (%)	189 (94,5)	75 (93,8)	1,14 (0,38-3,45)	
Генотипы	G/G, n (%)	2 (2,0)	1 (2,5)	0,89 (0,26-3,07) ^в	0,854
	G/A, n (%)	7 (7,0)	3 (7,5)	1,08 (0,26-4,39) ^б	0,917
	A/A, n (%)	91 (91,0)	36 (90,0)	1,25 (1,25-14,26) ^а	0,854

Таким образом статистически значимые различия распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 и полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 в группах больных ИМН и лиц без данной патологии свидетельствуют об ассоциации этих полиморфных маркеров с развитием ИМН, при этом носительство аллеля А и генотипа А/А обоих полиморфных маркеров является фактором риска развития патологии (ОШ>1), а носительство аллеля G и генотипа G/G ассоциировано со сниженным риском развития ИМН (ОШ < 1).

3.1.3. Генетическое взаимодействие между полиморфными маркерами rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1

Результаты сравнительного анализа комбинации генотипов полиморфного маркера rs4664308 генов PLA2R1 и rs21887668 гена HLA-DQA1 представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7 - Сочетание генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 и оценка риска развития ИМН

п, ИМН/здоровые доноры		PLA2R1 (rs4664308)		
ОШ (95% ДИ)				
Р		A/A	A/G	G/G
HLA-DQA1 (rs2187668)	G/G	31/31	17/46	1/14
		14,00 (1,73-113,07)	5,17 (0,63-42,41)	1,00
		0,013	0,126	-
	G/A	7/3	2/4	0/0
		32,67 (2,85-374,14)	7,00 (0,50-98,60)	-
		0,005	0,149	-
	A/A	9/0	1/1	2/1
		-	14,00 (0,45-434,41)	28,00 (1,20-648,81)
		0,999	0,132	0,038

Полученные результаты показывают, что риск развития ИМН возрастает с увеличением числа аллелей риска гена PLA2R1 (rs4664308) и гена HLA-DQA1 (rs2187668). Все носители комбинации генотипов A/A гена PLA2R1 и A/A гена HLA-DQA1 были пациентами с ИМН (9 больных ИМН vs 0 здоровых доноров), в связи с чем расчет оценки риска не представлялся возможным.

Для получения более точных результатов анализа исследуемые гены были сгруппированы следующим образом: носителей генотипа G/G гена PLA2R1 (rs4664308) объединили с носителями генотипа A/G (из-за малого числа носителей генотипа G/G), а носителей генотипа A/A ген HLA-DQA1 (rs2187668) – с носителями генотипа G/A (из-за малого числа носителей генотипа G/A) (Рисунок 3.1).

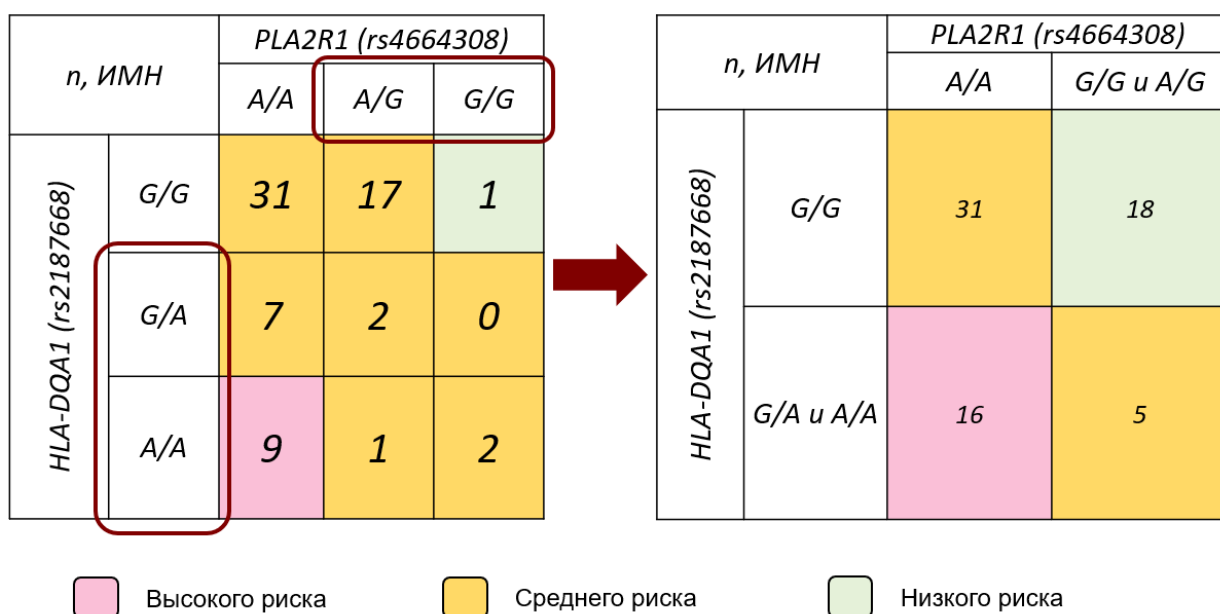


Рисунок 3.1 – Объединение генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs4664308 гена HLA-DQA1 для анализа

Отмечено увеличение риска развития ИМН у носителей комбинации генотипа A/A гена PLA2R1 (rs4664308) и генотипов A/A и G/A гена HLA-DQA1 (rs21887668) почти в 18 раз (4,65 - 68,00 95% ДИ, $p < 0,001$). У комбинации генотипов G/G и A/G гена PLA2R1 (rs4664308) и генотипов A/A и G/A гена HLA-DQA1 (rs21887668), а так же у комбинации генотипа A/A гена PLA2R1 (rs4664308) и генотипа G/G гена HLA-DQA1 (rs21887668) риски были схожи (ОШ=2,78, 95% ДИ 2,78 (0,76-10,18), $p=0,123$ и ОШ=3,33, 95% ДИ 1,62-6,88, $p=0,001$ соответственно) (Таблица 3.8, Рисунок 3.2).

Таблица 3.8 – Распределение частот комбинации генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1

Комбинации генотипов		ИМН (n=70)	Здоровые доноры (n=100)	ОШ (95% ДИ)	p
PLA2R1 (rs4664308)	HLA-DQA1 (rs2187668)				
G/G и A/G	G/G	18 (25,7)	60 (60,0)	1,00	-
A/A	G/G	31 (44,3)	31 (31,0)	3,33 (1,62-6,88)	0,001
G/G и A/G	A/A и G/A	5 (7,1)	6 (6,0)	2,78 (0,76-10,18)	0,123
A/A	A/A и G/A	16 (22,9)	3 (3,0)	17,70 (4,65-68,00)	< 0,001

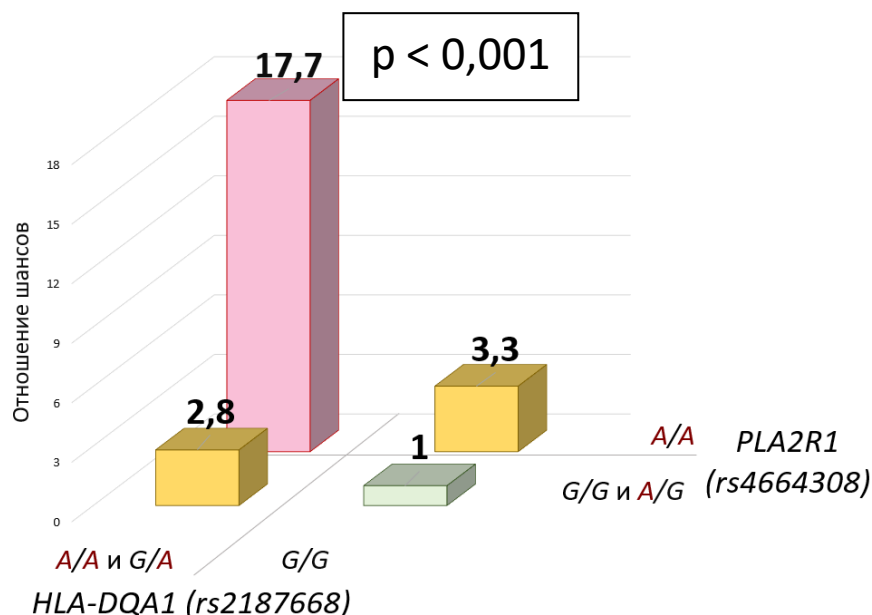


Рисунок 3.2 – Комбинированный эффект генетического риска развития ИМН

3.1.4. Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с развитием идиопатической мембранозной нефропатии в группах, разделенных по количеству аллелей риска

Сравнительный анализ распределения комбинации аллелей риска полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 среди больных ИМН и в группе здоровых доноров показал увеличение риска развития ИМН почти в 8 раз (Таблица 3.9).

Таблица 3.9 – Распределение частот комбинации аллелей полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1

Комбинации генотипов	ИМН (n=70)	Контроль (n=100)	ОШ (95% ДИ)	р
PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1(rs2187668)				
Не более 2 аллелей риска	53 (75,7)	96 (96,0)	0,13 (0,04-0,41)	< 0,001
3 или 4 аллеля риска	17 (24,3)	4 (4,0)	7,70 (2,46-24,06)	

3.1.5. Формирование групп, разделенных в зависимости от аллелей и генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 для дальнейшего анализа

Для анализа ассоциации выработки АТ к PLA2R, клинических особенностей ИМН, ответ на ИСТ и прогрессирования почечной дисфункции с носительством генотипов и аллелей риска полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs21887668 гена HLA-DQA1 определились следующие группы:

- A/A vs G/G и A/G для гена PLA2R1 (rs4664308) в связи с малым числом носителей генотипа G/G (ОШ = 3,97);
- A/A и G/A vs G/G гена HLA-DQA1 (rs21887668) в связи с малым числом носителей генотипа G/A и A/A (ОШ = 5,30);
- комбинации генотипов исследуемых генов были разделены на следующие группы: в группу комбинации высокого риска входили больные с генотипом A/A гена PLA2R1 (rs4664308) и генотипами G/A и A/A гена HLA-DQA1 (rs2187668); пациенты с генотипом A/A гена PLA2R1 (rs4664308) и генотипом G/G гена HLA-DQA1 (rs2187668) и пациенты с генотипами A/G и G/G гена PLA2R1 (rs4664308) и генотипами G/A и A/A гена HLA-DQA1 (rs2187668) были объединены в одну группу среднего риска, так как ОШ развития ИМН у данных комбинаций было схоже; группа низкого риска состояла из комбинации генотипов по аллелю G полиморфных маркеров PLA2R1 (rs4664308) и генотипа G/G гена HLA-DQA1 (rs2187668) (Таблица 3.10);

Таблица 3.10 – Сочетание генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R и rs2187668 гена HLA-DQA1 в комбинированных группах

Группы		PLA2R1 (rs4664308)	
		Генотип A/A	Генотипы A/G и G/G
HLA-DQA1 (rs2187668)	Генотипы G/G	Среднего риска ОШ = 3,33	Низкого риска ОШ = 1,00
	Генотип G/A и A/A	Высокого риска ОШ = 17,70	Среднего риска ОШ = 2,78

- комбинации аллелей исследуемых генов были разделены на носителей 3 или 4 аллелей риска и носителей не более 2 аллелей риска.

3.2. Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с выявлением АТ к PLA2R

3.2.1. Анализ клинических проявление идиопатической мембранозной нефропатии в зависимости от выявления АТ к PLA2R1

Титры АТ к PLA2R были определены у 34 пациентов (средний возраст $48,7 \pm 14,7$, доля мужчин 67,6%, женщин – 32,4%). Положительные АТ к PLA2R были выявлены у 26 пациентов (76,5%) из 34. Для дальнейшего анализа пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от выявляемых у них циркулирующих АТ к PLA2R – анти-PLA2R положительные и анти-PLA2R отрицательные. Различий в распределение по полу между группами выявлено не было (анти-PLA2R положительные мужчины составили 73,1%, анти-PLA2R отрицательные – 50,0%, $p=0,213$). Возраст пациентов как на момент дебюта заболевания, так и на момент постановки диагноза был выше у анти-PLA2R положительных пациентов по сравнению с анти-PLA2R отрицательными ($54,0$ (27; 77) vs $36,0$ (22; 54), $p=0,013$ в дебюте заболевания и $55,0$ (27; 77) vs $38,0$ (27; 54), $p=0,013$ на момент установления диагноза) (рис. 3.11).

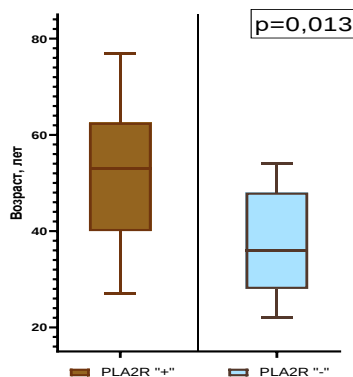


Рисунок 3.3 - Возраст больных ИМН в дебюте заболевания в зависимости от циркуляции АТ к PLA2R

Выраженность нефротического синдрома в обеих группах была сопоставима, однако, отмечена тенденция к более частому выявлению ПУ выше 4 г/сут у анти-PLA2R положительных пациентов по сравнению с анти-PLA2R отрицательными (76,0% vs 37,5%, $p=0,080$). Клинико-лабораторные характеристики представлены в таблице 3.11.

Таблица 3.11 – Лабораторные показатели выраженности НС в анти-PLA2R положительных и отрицательных группах больных ИМН

Показатель	Анти-PLA2R «+»	Анти-PLA2R «-»	p
ПУ, г/сут	5,9 (2,4; 16,5)	6,3 (1,6; 12,0)	0,688
ПУ > 4 г/сут, n (%)	19 (76,0)	3 (37,5)	0,080
Общий белок, г/л	47,0 (32; 60)	45,5 (37; 76)	0,914
Альбумин, г/л	23,5 (15; 35)	26,0 (20; 42)	0,420
Холестерин, ммоль/л	8,7 (5,0; 14,9)	7,2 (5,2; 14,1)	0,384
Частота НС в дебюте, n (%)	23 (88,5)	6 (75,0)	NS

Статистически значимых различий между значениями САД и ДАД, степенью АГ выявлено не было (Таблица 3.12).

Таблица 3.12 – Лабораторные показатели выраженности синдрома АГ в анти-PLA2R положительных и отрицательных группах больных ИМН

Показатель	Анти-PLA2R «+»	Анти-PLA2R «-»	p
САД, мм рт. ст.	140 (110; 170)	120 (110; 200)	0,470
ДАД, мм рт. ст.	80 (70; 100)	80 (70; 100)	0,578
Частота АГ, n (%)	16 (61,5)	4 (50,0)	NS
Степень АГ, n (%)			
I степень	6 (37,5)	2 (50,0)	NS
II степень	6 (37,5)	1 (25,0)	
III степень	4 (25,0)	1 (25,0)	

Частота выявления снижения уровня СКФ ниже 60 мл/мин/1,73 м² на момент постановки диагноза в обеих группах была сопоставима – 26,9% у анти-PLA2R положительных и 25,0% у анти-PLA2R отрицательных больных.

Значения креатинина крови и СКФ так же не различались в исследуемых группах (Таблица 3.13).

Таблица 3.13 – Лабораторные показатели, отражающие нарушение функции почек, у анти-PLA2R положительных и отрицательных больных ИМН

Показатель	Анти-PLA2R «+»	Анти-PLA2R «-»	р
Креатинин, мкмоль/л	85,0 (64; 218)	83,0 (54; 163)	0,485
рСКФ, мл/мин/1,73 м ²	73,0 (29; 117)	95,5 (46,128)	0,236
СКФ < 60 мл/мин/1,73 м ²	7 (26,9)	2 (25,0)	0,649
ХБП			
1 стадии, %	9 (34,6)	5 (62,5)	NS
2 стадии, %	10 (38,5)	1 (12,5)	
3 стадии, %	7 (26,9)	2 (25,0)	

Морфологическая стадия по данным пункционной биопсии почки была известна у 25 пациентов из 34. Обращало на себя внимание, что у пациентов с отрицательными АТ к PLA2R отмечались более продвинутые стадии ИМН, однако, данные изменения не достигли статистической значимости в силу малого количества PLA2R отрицательных пациентов (Таблица 3.14).

Таблица 3.14 – Лабораторные показатели, отражающие нарушение функции почек, у анти-PLA2R положительных и отрицательных больных ИМН

Показатель	Анти-PLA2R «+»	Анти-PLA2R «-»	Р
Морфологическая стадия ИМН			
1 стадии, %	3 (16,7)	0 (0,0)	NS
2 стадии, %	14 (77,8)	3 (42,9)	
3 стадии, %	1 (5,6)	4 (57,1)	

Ответ на ИСТ удалось проследить у 19 пациентов, при этом частота развития полной или частичной ремиссии у анти-PLA2R положительных и отрицательных пациентов была сопоставима – пациенты с положительными

АТ к PLA2R ремиссии достигали в 68,8% случаев, а с отрицательными – в 66,7% случаев.

Обращало на себя внимание, что пациентам с отрицательными АТ к PLA2R удалось достичь ответа применением 1 курса ИСТ (1 пациент получал ЦсА и 1 пациент получал сочетанную «пульс»-терапию ЦФА и ПЗ), а для достижения ремиссии у пациентов с положительными АТ у 6 пациентов (54,5%) прибегали к смене режима ИСТ.

В первые 2 года прогрессирование дисфункции почек отмечено чаще у пациентов с положительными АТ к PLA2R, однако, разница между PLA2R положительными и PLA2R-отрицательными пациента в прогрессировании дисфункции почек не достигала статистической значимости ($p=0,271$) (Рисунок. 3.4).

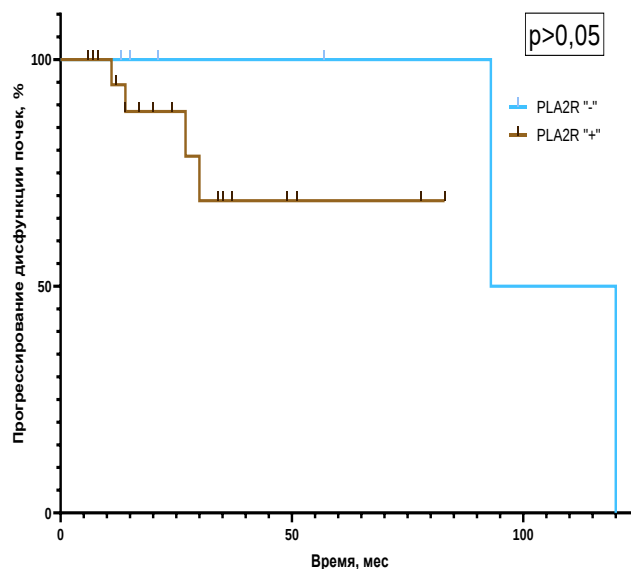


Рисунок 3.4. – Влияние АТ к PLA2R на «почечную выживаемости»

При корреляционном анализе уровень АТ к PLA2R не коррелировал с СПУ ($r=-0,182$, $p=0,327$), альбумином ($r=-0,233$, $p=0,199$) и креатинином крови ($r=-0,181$, $p=0,314$) и слабо коррелировал с возрастом ($r=0,480$, $p=0,011$) и СКФ ($r=-0,388$, $p=0,028$).

3.2.2. Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с выявлением и титрами АТ к PLA2R

Был оценен риск развития ИМН в группе пациентов, включавшей в себя только анти-PLA2R позитивных больных. Результаты анализа представлены в таблице 3.15.

Таблица 3.15 – Распределение частот генотипа А/А полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 в группе PLA2R-положительных больных ИМН и здоровых доноров

Генотип		PLA2R «+» ИМН (n=26)	Контроль (n=100)	ОШ (95% ДИ)	P
PLA2R1 (rs4664308)	A/A, n (%)	19 (73,1)	34 (34,0)	6,57 (2,02-13,77)	< 0,001
HLA-DQA1 (rs2187668)	A/A, n (%)	5 (19,2)	2 (2,0)	11,67 (2,12-64,27)	0,004

Анализ ассоциации 26 PLA2R-ассоциированных больных ИМН показал, что носительство генотипа А/А гена PLA2R1 (rs4664308) были достоверно связаны с развитием ИМН и увеличивал риск в 6,5 раз, а носительство генотипа А/А гена HLA-DQA1 (rs2187668) увеличивал риск развития заболевания в 12 раз. При этом у носителей генотипа А/А гена PLA2R1 (rs4664308) разница между рисками у PLA2R-положительных пациентов и общей группой больных была более существенная, чем у носителей генотипа А/А гена HLA-DQA1 (rs2187668).

У носителей генотипа риска А/А гена PLA2R1 (rs4664308) отмечено увеличение частоты PLA2R-положительных больных, по сравнению с носителями аллеля G (87,0% vs 54,5%, p=0,052) (Таблица 3.16, Рисунок 3.5).

Таблица 3.16 – Частота выявления АТ к PLA2R у больных ИМН, разделенных в зависимости от генотипа полиморфных маркеров генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
Анти-PLA2R «+», n (%)	20 (87,0)	6 (54,5)	0,052	8 (88,9)	18 (72,0)	0,298
Анти-PLA2R «-», n (%)	3 (13,0)	5 (45,5)		1 (11,1)	7 (28,0)	

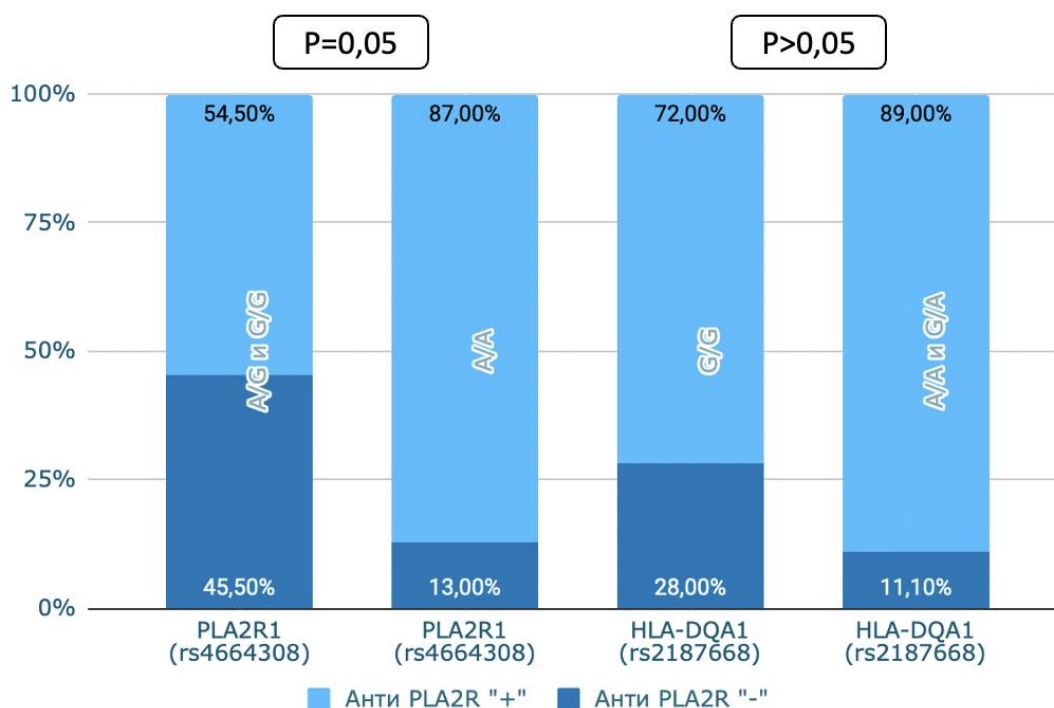


Рисунок 3.5 - Распределение положительных АТ к PLA2R (в %) в зависимости от генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1

Обращало на себя внимание, что в исследуемых группах у всех пациентов с комбинацией генотипов высокого риска ИМН была ассоциирована с выработкой АТ к PLA2R, когда как у пациентов с комбинацией генотипов низкого риска АТ выявлялись лишь в половине случаев, однако, данные изменения не достигли статистической значимости (Таблица 3.17, Рисунок 3.6).

Таблица 3.17 – Частота выявления АТ к PLA2R у больных ИМН, разделенных в зависимости от комбинации генотипов и аллелей генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	Комбинации генотипов			
	Высокого риска	Среднего риска	Низкого риска	
Анти-PLA2R «+», n (%)	6 (100,0)	16 (80,0)	4 (50,0)	NS
Анти-PLA2R «-», n (%)	0 (0,0)	4 (20,0)	4 (50,0)	
	Комбинации аллелей			
	3 или 4 аллеля риска	Не более 2 аллелей риска		
Анти-PLA2R «+», n (%)	6 (100,0)	20 (74,1)	NS	
Анти-PLA2R «-», n (%)	0 (0,0)	7 (25,9)		

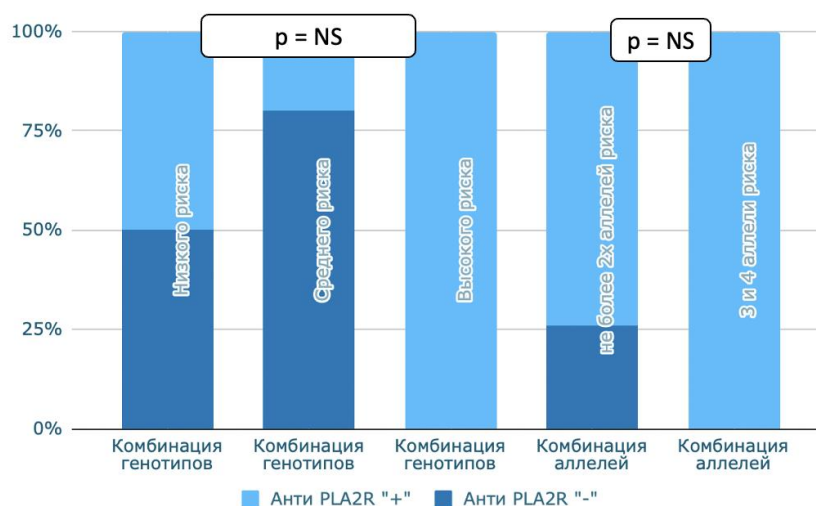


Рисунок 3.6 – Распределение положительных АТ к PLA2R (в %) в зависимости от комбинации генотипов и аллелей полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1

При анализе взаимосвязи титров АТ и генотипа исследуемых полиморфных маркеров обращало на себя внимание, что у пациентов с генотипом А/А гена PLA2R1 преобладает титры АТ к PLA2R 1:80 и выше по сравнению с носителями аллеля G (80,0% vs 33,3%, $p=0,051$), однако, из-за

малого числа наблюдений статистическую значимость оценивать не представлялось возможным (Таблица 3.18, Рисунок 3.7).

Таблица 3.18 – Частота выявления титров АТ к PLA2R от 1:80 и выше у больных ИМН, разделенных в зависимости от генотипов гена PLA2R1 (rs4664308)

Титры АТ к PLA2R	PLA2R1 (rs4664308)		p
	A/A	A/G и G/G	
1:10 - 1:40, n (%)	4 (20,0)	4 (66,7)	NS
1:80 – 1:640, n (%)	16 (80,0)	2 (33,3)	

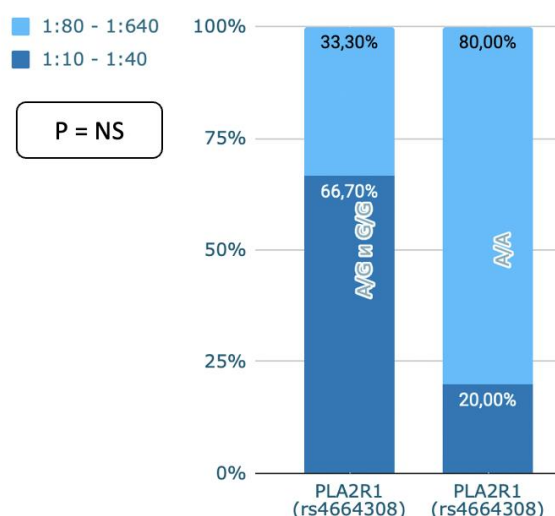


Рисунок. 3.7 – Распределение титров АТ к PLA2R (в %) в зависимости от полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1

Статистически значимых различий между группами больными, разделёнными в зависимости от генотипа полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA по титрам АТ к PLA2R выявлено не было (Таблица 3.19)

Таблица 3.19 – Частота выявления титров АТ к PLA2R от 1:80 и выше у больных ИМН, разделенных в зависимости от генотипов гена HLA-DQA1 (rs2187668)

Титры АТ к PLA2R	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A и G/A	G/G	
1:10 - 1:40, n (%)	5 (62,5)	3 (16,7)	NS
1:80 – 1:640, n (%)	3 (37,5)	15 (83,3)	

При более детальном анализе титров АТ к PLA2R, распределенных в зависимости от генотипов полиморфных маркеров генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) обращает на себя внимание, что титры от 1:80 и выше преобладают у носителей аллеля А гена PLA2R1, даже если пациенты были носителями аллеля G гена HLA-DQA1. При этом у пациентов с генотипов А/А гена HLA-DQA1 при отсутствии аллеля риска PLA2R1 так же обнаруживались АТ, однако, их уровень находится в пределах от 1:10 до 1:40.

3.3. Характеристика клинических особенностей идиопатической мембранозной нефропатии в зависимости от генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1

3.3.1. Характеристика пола

При анализе пола значимых различий между группами больных, выделенных в зависимости от генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668), а также комбинации генотипов и аллелей исследуемых генов выявлено не было (Таблица 3.20).

Таблица 3.20 - Пол пациентов с ИМН, распределенных в зависимости от генотипа полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 и комбинации генотипов и аллелей исследуемых генов

Пол	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		P
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
Мужской, n (%)	26 (55,3)	14 (60,9)	0,429	10 (47,6)	30 (61,2)	0,214
Женский, n (%)	21 (44,7)	9 (39,1)		11 (52,4)	19 (38,8)	
	Комбинации генотипов					
	Высокого риска		Среднего риска		Низкого риска	
Мужской, n (%)	8 (50,0)		20 (55,6)		12 (66,7)	0,595
Женский, n (%)	8 (50,0)		16 (44,4)		6 (33,3)	

Продолжение таблицы 3.20

	Комбинации аллелей		
	3 или 4 аллеля риска	Не более 2 аллелей риска	
Мужской, п (%)	9 (52,9)	31 (58,5)	0,449
Женский, п (%)	8 (47,1)	22 (41,5)	

3.3.2. Характеристика дебюта идиопатической мембранозной нефропатии

Характеристика возраста начала идиопатической мембранозной нефропатии

При анализе возраста больных ИМН, разделенных на группы в соответствии с генотипами гена PLA2R1 (rs4664308) и гена HLA-DQA1 (rs2187668) и их комбинаций, значимых различий выявлено не было (Таблица 3.21).

Таблица 3.21 – Возраст начала ИМН в зависимости от полиморфных маркеров гена PLA2R1 (rs4664308) и гена HLA-DQA1 (rs2187668), а также от комбинации генотипов и аллелей исследуемых генов

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
Возраст, лет	49,4±13,8	44,2±15,7	0,137	48,5±13,5	45,8±15,8	0,521
	Комбинации генотипов					p
	Высокого риска	Среднего риска		Низкого риска		
Возраст, лет	48,1±14,3	50,2±13,4		41,7±16,6		0,110
	Комбинации аллелей					p
	3 и 4 аллеля риска	Не более 2 аллелей риска				
Возраст, лет	48,5±14,3	46,0±15,5				0,588

При анализе зависимости частоты размытия ИМН от возраста обнаружено, что у носителей аллеля G гена PLA2R1 (rs4664308) частота появления клинических проявлений МН в возрасте моложе 50 лет была выше по сравнению с носителями генотипа A/A (70% vs 45% соответственно, $p=0,059$) (Таблица 3.22, Рисунок 3.8).

Таблица 3.22 – Зависимость частот возникновения ИМН от возраста, распределенных в соответствии с генотипами генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

Пол	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
Моложе 50 лет, n (%)	18 (45,0)	14 (70,0)	0,059	9 (47,4)	23 (56,1)	0,362
50 лет и старше, n (%)	22 (55,0)	6 (30,0)		10 (52,6)	18 (43,9)	

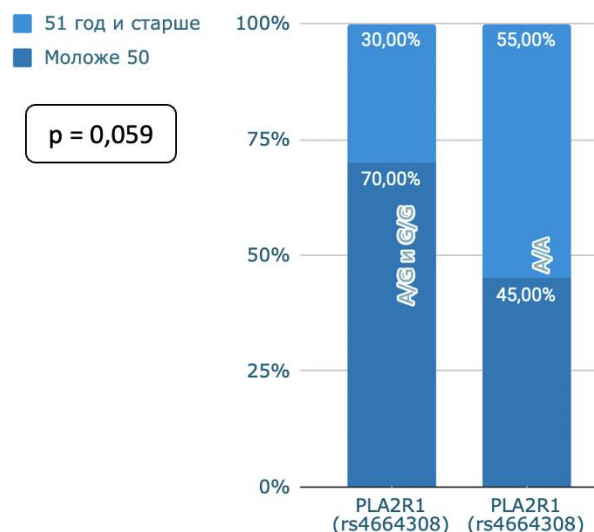


Рисунок 3.8 - Частота (в %) дебюта заболевания в возрасте старше 50 лет в зависимости от генотипов гена PLA2R1 (rs4664308)

Аналогичные результаты были получены при сравнении комбинации генотипов: у носителей комбинации генотипов низкого риска начало ИМН

наблюдалось чаще у пациентов моложе 50 лет по сравнению с носителями комбинациями среднего и высокого риска (80% vs 41,9 и 50% соответственно, $p=0,051$) (Таблица 3.23, Рисунок 3.9).

Таблица 3.23 - Пол пациентов с ИМН, распределенных в зависимости от комбинации генотипов и аллелей генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

Пол	Комбинации генотипов			p
	Высокого риска	Среднего риска	Низкого риска	
Моложе 50 лет, n (%)	7 (50,0)	13 (41,9)	12 (80,0)	0,051
50 лет и старше, n (%)	7 (50,0)	18 (58,1)	3 (20,0)	
	Комбинации аллелей			
	3 или 4 аллеля риска	Не более 2 аллелей риска		
Моложе 50 лет, n (%)	7 (46,7)	25 (55,6)	0,382	
50 лет и старше, n (%)	8 (53,3)	20 (44,4)		

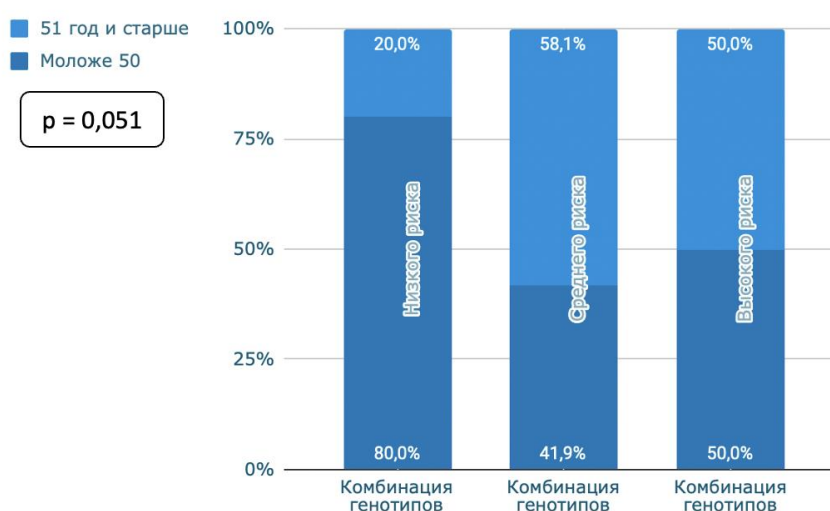


Рисунок 3.9 – Частота (в %) дебюта заболевания в возрасте старше 50 лет в зависимости от комбинации генотипов и аллелей генов PLA2R (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

Анализ частоты НС в дебюте ИМН

Во всех группах ИМН дебютировала НС, частота которого варьировалась от 83,3% до 87,5%. Результат анализа частоты развития НС в группах, разделенных в зависимости от генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1, а также комбинации генотипов и аллелей исследуемых генов представлена в таблице 3.24.

Таблица 3.24 – Частота развитие НС или МС в дебюте ИМН, распределенных в зависимости от генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 и их комбинаций

Пол	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
HC, n (%)	18 (90,0)	35 (83,3)	0,391	18 (90,0)	35 (83,3)	0,391
MC, n (%)	2 (10,0)	7 (16,7)		2 (10,0)	7 (16,1)	
	Комбинации генотипов					
	Высокого риска		Среднего риска		Низкого риска	
HC, n (%)	13 (86,7)		27 (84,4)		13 (86,7)	NS
MC, n (%)	2 (13,3)		5 (15,6)		2 (13,3)	
	Комбинации аллелей					
	3 или 4 аллеля риска			Не более 2 аллелей риска		
HC, n (%)	14 (87,5)			39 (84,8)		0,577
MC, n (%)	2 (12,5)			7 (15,2)		

3.3.3. Характеристика выраженности нефротического синдрома

Была проанализирована взаимосвязь лабораторных показателей выраженности НС в зависимости от генотипов полиморфных маркеров генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668). Выраженность ПУ и уровень

общего белка была проанализирована у 56 пациентов, уровень альбумина – у 55 пациентов, уровень холестерина – у 48 пациентов, результаты представлены в таблице 3.25 и 3.26.

Таблица 3.25 – Значение лабораторных показателей, отражающих выраженность НС, в зависимости от генотипов гена PLA2R1 (rs4664308)

Показатели	n	PLA2R1 (rs4664308)		p
		A/A	A/G и G/G	
СПУ, г/сут	56	5,4 (2,4; 16,5)	3,8 (1,4; 12,0)	0,048
СПУ более 4 г/сут, n (%)	56	28 (75,7)	9 (47,4)	0,035
Альбумин, г/л	55	24,1±5,7	27,6±9,4	0,092
Общий белок, г/л	56	46,5 (32; 64)	48,0 (34; 76)	0,527
Холестерин, ммоль/л	48	9,7±2,9	8,2±2,5	0,090

Таблица 3.26 – Значение лабораторных показателей, отражающих выраженность НС, в зависимости от генотипов гена HLA-DQA1 (rs2187668)

Показатели	n	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
		A/A и G/A	G/G	
СПУ, г/сут	56	5,8 (3,7; 13,0)	4,4 (1,4; 16,5)	0,200
СПУ более 4 г/сут, n (%)	56	15 (83,3)	22 (57,9)	0,055
Альбумин, г/л	55	25,5 (15; 35)	25,0 (15; 43)	0,361
Общий белок, г/л	56	47,5 (34; 60)	46,0 (32; 76)	0,623
Холестерин, ммоль/л	48	8,9±2,5	9,3±3,0	0,663

При анализе уровня СПУ у больных ИМН, разделенных на группы в соответствии с генотипами полиморфного маркера PLA2R1 (rs4664308) у носителей генотипа A/A средний уровень суточной потери белка оказалась выше у больных по сравнению с генотипами A/G и G/G (5,4 (2,4; 16,5) vs 3,8 (1,4; 12,0), p=0,048) (Рисунок 3.10).

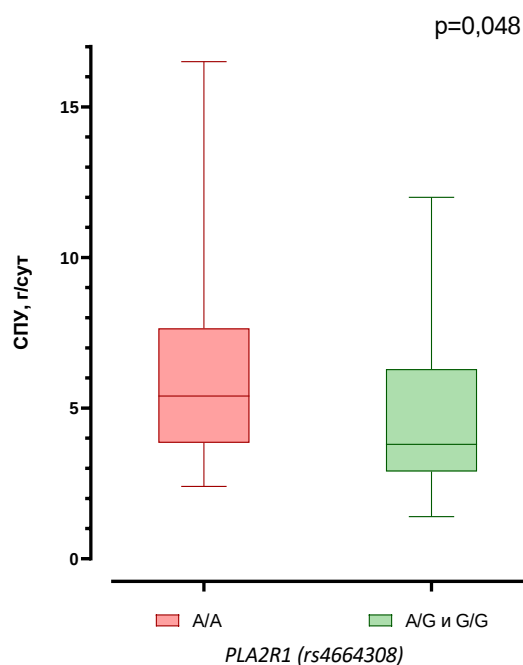


Рисунок 3.10 - Уровень СПУ (г/сут) в зависимости от генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1

У носителей генотипа A/A отмечено статистически значимое увеличение частоты суточной потери белка более 4 г/сут, по сравнению с носителями аллеля G гена PLA2R1 (rs4664308) (Рисунок 3.11).

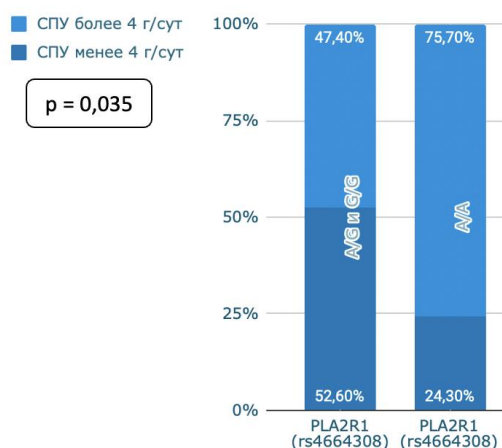


Рисунок 3.11 – Частота (в %) СПУ более 4 г/сут в зависимости от генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1

Кроме того, была выявлена тенденция к более низким значениям альбумина крови и более высоким значениям холестерина крови у носителей генотипа A/A по сравнению с носителями генотипов A/G и G/G гена PLA2R1

(rs4664308) ($24,1 \pm 5,7$ vs $27,6 \pm 9,4$, $p=0,092$ и $9,7 \pm 2,9$ vs $8,2 \pm 2,5$, $p=0,090$ соответственно) (Рисунок 3.12).

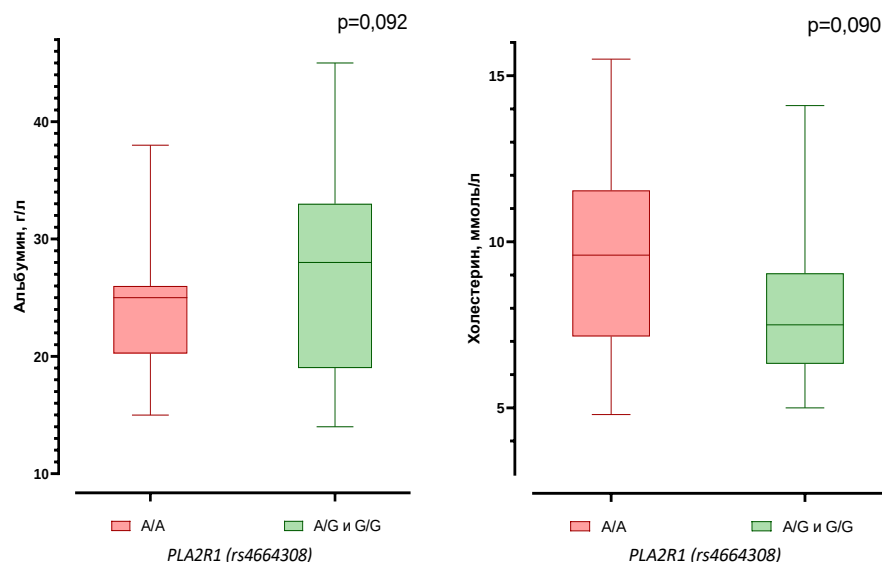


Рисунок 3.12 - Уровень альбумина (г/л) (слева) и ХС (ммоль/л) (справа) в зависимости от генотипов полиморфного маркера rs4664308 генов PLA2R1

Средний уровень СПУ у больных ИМН, разделенных на группы в соответствии с генотипами гена HLA-DQA1 (rs2187668), не отличался, однако, обращало внимание, что у носителей аллеля А суточная потеря белка более 4 г/сут была чаще, по сравнению с носителями генотипа G/G (Рисунок 3.13).

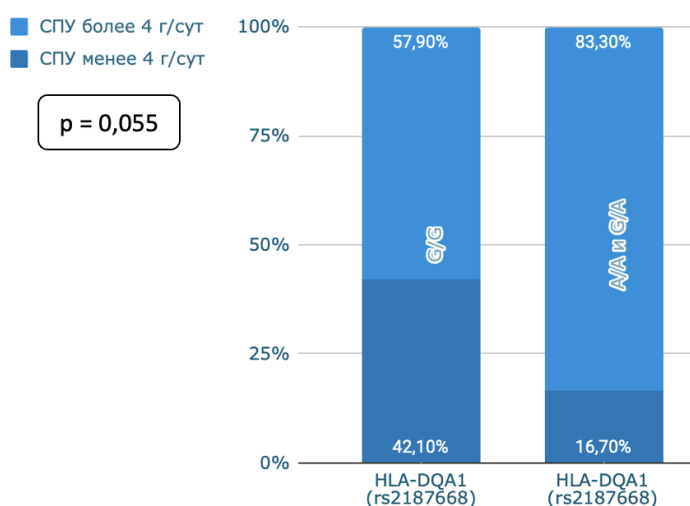
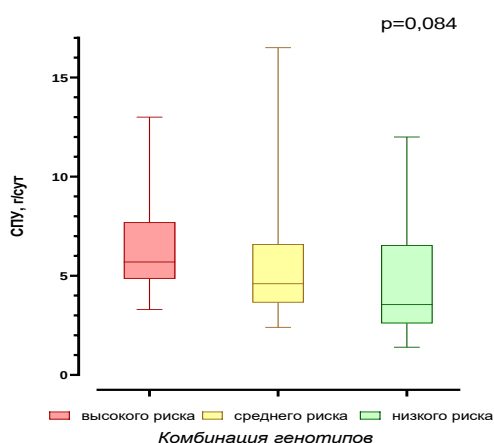


Рисунок 3.13 – Частота (в %) СПУ более 4 г/сут в зависимости от генотипов полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1

У больных с комбинацией генотипов исследуемых генов высокого риска отмечалась тенденция к более высоким показателям суточной потери белка, по сравнению с комбинациями среднего и низкого риска (6,5 (3,9; 13,0) vs 4,6 (2,4; 16,5) и 3,3 (1,4; 12,0), $p=0,084$). Частота развития СПУ более 4 г/сут была выше у носителей комбинации генотипы высокого риска, по сравнению с комбинациями среднего и низкого риска (92,3% vs 65,5% и 42,9%, $p=0,025$). При сравнения остальные показатели НС, такие как альбумин, общий белок и холестерин, у пациентов в группах, разделенных в зависимости от комбинации генотипов, значения не различались (Таблица 3.27, Рисунок 3.14 3.15).

Таблица 3.27 – Значение лабораторных показателей, отражающих выраженность НС, в зависимости от комбинации генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

Среднее значение	n	Комбинации генотипов			p
		Высокого риска	Среднего риска	Низкого риска	
СПУ, г/сут	56	6,5 (3,9; 13,0)	4,6 (2,4; 16,5)	3,3 (1,4; 12,0)	0,084
СПУ более 4 г/сут, n (%)	56	12 (92,3)	19 (65,5)	6 (42,9)	0,025
Альбумин, г/л	55	24,0±4,7	24,0±5,4	26,2±9,0	0,680
Общий белок, г/л	56	47,0 (34; 55)	46,0 (32; 61)	48,0 (34; 76)	0,954
Холестерин, ммоль/л	48	9,1±2,7	9,7±3,0	8,2±2,8	0,301



57,1

Рисунок 3.14 – Уровень СПУ (г/сут), распределенным в зависимости от комбинации генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

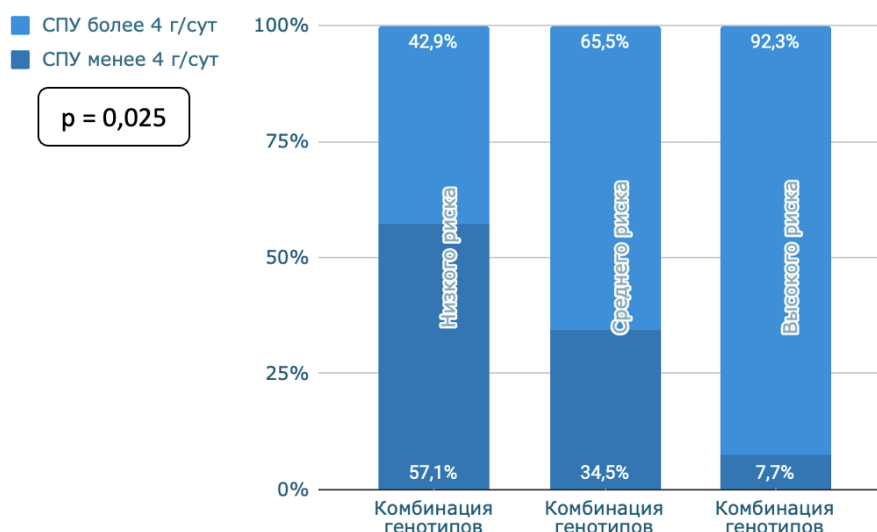


Рисунок 3.15 – Частота (в %) СПУ более 4 г/сут в зависимости от комбинации генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

У больных носителей 3 или 4 аллелей риска комбинации генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) была отмечена тенденция к более высоким значениям СПУ, по сравнению с носителями не более 2 аллелей риска, значения общего белка, альбумина и холестерина не различались между группами (Таблица 3.28, Рисунок 3.16).

Таблица 3.28 – Значение лабораторных показателей, отражающих выраженность НС, в зависимости от комбинации генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

Среднее значение	n	Комбинация генотипов		p
		3 или 4 аллели риска	Не более 2 аллелей риска	
ПУ, г/сут	56	6,5 (3,9; 13,0)	4,2 (1,4; 16,5)	0,077
СПУ более 4 г/сут, n (%)	56	13 (92,9)	24 (57,1)	0,013
Альбумин, г/л	55	25,3±7,4	25,3±7,4	0,991
Общий белок, г/л	56	47,0 (34; 55)	46,0 (32; 76)	0,955
Холестерин, ммоль/л	48	8,2 (4,8; 13,1)	8,7 (5,0; 15,5)	0,972

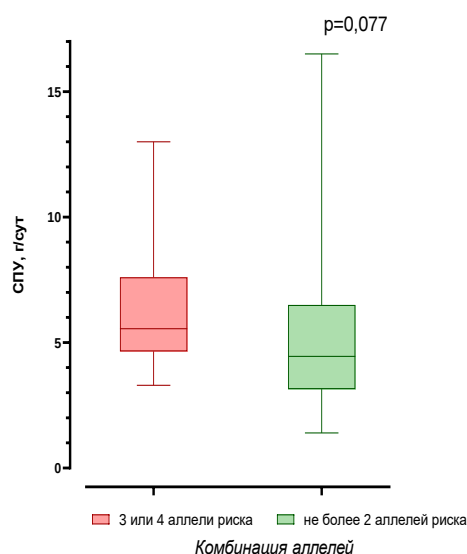


Рисунок 3.16 - Уровень ПУ (г/сут) в зависимости от комбинированных групп генотипов генов PLA2R (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

У носителей комбинации 3 и 4 аллелей риска отмечено статистически значимое увеличение частоты суточной потери белка более 4 г/сут, по сравнению с носителями комбинации не более 2 аллелей риска (92,9% vs 57,1%, $p=0,013$) (Рисунок 3.17).

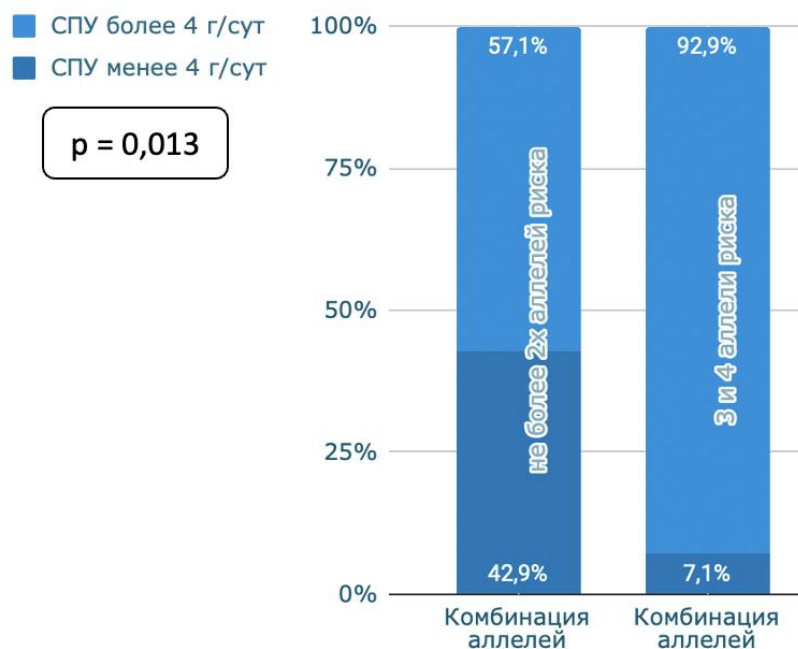


Рисунок 3.17 – Частота (в %) СПУ более 4 г/сут в зависимости от комбинации аллелей риска генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

3.3.4. Характеристика выраженности артериальной гипертензии

Средние значений АД, зарегистрированные на момент постановки диагноза ИМН у пациентов, разделенных в зависимости от генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) не отличались. Аналогичные результаты были получены при сравнении САД и ДАД в группах пациентов, разделенных в зависимости от комбинации генотипов (Таблица 3.29).

Таблица 3.29 – Значение уровня САД и ДАД в мм.рт.ст. в зависимости от генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) и комбинации генотипов и аллелей исследуемых генов

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
САД, мм.рт.ст.	135,0 (110; 170)	125,0 (110; 170)	0,928	130,0 (110; 160)	140,0 (110; 200)	0,051
ДАД, мм.рт.ст.	80,0 (70; 100)	80,0 (70;100)	0,959	80,0 (70; 100)	90 (70; 100)	0,138
		Комбинация генотипов				p
		Высокого риска	Среднего риска	Низкого риска		
САД, мм.рт.ст.		125,0 (110; 160)	135,0 (110; 200)	140,0 (110; 170)		0,257
ДАД, мм.рт.ст.		80,0 (70; 100)	80,0 (70; 100)	90,0 (70; 100)		0,638
		Комбинация аллелей				p
		3 или 4 аллели риска		Не более 2 аллелей риска		
САД, мм.рт.ст.		130,0 (110; 160)		135,0 (110; 200)		0,137
ДАД, мм.рт.ст.		80,0 (70; 100)		80,0 (70; 100)		0,412

Была выявлена тенденция к более высоким цифрам САД у пациентов, носителей генотипа G/G гена HLA-DQA1 (rs2187668) был выше, чем у носителей генотипов A/A и G/A (140 (110; 200) vs 130 (110; 160), p=0,051), значение ДАД в группах, разделенных в зависимости от генотипов данного полиморфного маркера не различалось.

При анализе частоты АГ среди больных ИМН у носителей генотипа A/A обнаружена тенденция с более частому выявлению АГ по сравнению с

носителями аллеля G полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 (61,9% vs 47,4%, $p=0,052$) (Таблица 3.30).

Таблица 3.30 - Значение уровня САД и ДАД в мм.рт.ст. в зависимости от генотипа генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) и комбинации аллелей и генотипов исследуемых генов

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
АГ нет, n (%)	16 (38,1)	10 (52,6)	0,052	10 (52,6)	16 (38,1)	0,216
АГ есть, n (%)	26 (61,9)	9 (47,4)		9 (47,4)	26 (61,9)	
	Комбинации генотипов					p
	Высокого риска		Среднего риска		Низкого риска	
АГ нет, n (%)	7 (46,7)		12 (38,7)		7 (46,7)	0,773
АГ есть, n (%)	8 (53,3)		18 (61,3)		8 (53,3)	
	Комбинации аллелей					p
	3 и 4 аллеля риска			Не более 2 аллелей риска		
АГ нет, n (%)	8 (50,0)			18 (40,0)		0,343
АГ есть, n (%)	8 (50,0)			27 (60,0)		

Статистически значимых различий в распределении больных по степени АГ на момент постановки диагноза ИМН между группами, выделенными в соответствии с генотипами полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1, а также их комбинаций, не обнаружено (Таблица 3.31).

Таблица 3.31 – Степень АГ. в зависимости от генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) и комбинации генотипов и аллелей исследуемых генов

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
I степень, n (%)	13 (50,0)	1 (11,1)	NS	2 (22,2)	12 (46,2)	NS
II степень, n (%)	9 (34,6)	3 (33,3)		4 (44,4)	8 (30,8)	
III степень, n (%)	4 (15,4)	5 (55,6)		3 (33,4)	3 (33,3)	
	Комбинации генотипов					p
	Высокого риска		Среднего риска	Низкого риска		
I степень, n (%)	2 (25,0)		11 (57,9)	1 (12,5)		NS
II степень, n (%)	4 (50,0)		5 (26,3)	3 (37,5)		
III степень, n (%)	2 (25,0)		3 (15,8)	4 (50,0)		
	Комбинации аллелей					p
	3 и 4 аллеля риска			Не более 2 аллелей риска		
I степень, n (%)	2 (25,0)			12 (44,4)		NS
II степень, n (%)	4 (50,0)			8 (29,6)		
III степень, n (%)	2 (25,0)			7 (25,9)		

3.3.5. Характеристика нарушение функции почек, морфологической стадии МН у пациентов с идиопатической мембранозной нефропатии и времени, прошедшего от дебюта заболевания до выполнения биопсии почки

Нарушение функции почек

У 56 пациентов удалось проанализировать взаимосвязь нарушения функции почек и ее выраженность с носительством аллелей и генотипов риска исследуемых генов. Ассоциации между исследуемым генами PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) и уровнем креатинина или СКФ,

рассчитанной по формуле СКД-EPI, на момент пункционной биопсии почки не обнаружено (Таблица 3.32).

Таблица 3.32 – Значение креатинина (мкмоль/л) в зависимости от генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) и комбинации генотипов и аллелей исследуемых генов

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
Креатинин, мкмоль/л	83,0 (51; 218)	89,0 (54; 163)	0,673	85,0 (54; 118)	83,0 (51; 218)	0,737
СКФ, мл/мин/1,73 м²	79,0 (29; 133)	85,0 (46; 128)	0,829	79,0 (56; 131)	84,0 (29; 133)	0,643
Комбинация генотипов						
	Высокого риска		Среднего риска		Низкого риска	p
Креатинин, мкмоль/л	83,0 (58; 118)		83,5 (51; 218)		87,5 (54; 163)	0,871
СКФ, мл/мин/1,73 м²	85,5 (75; 131)		73,5 (29; 133)		86,0 (46; 128)	0,635
	Комбинация аллелей					p
	3 или 4 аллели риска			Не более 2 аллелей риска		
Креатинин, мкмоль/л	85,0 (58; 118)			83,0 (51; 218)		0,913
СКФ, мл/мин/1,73 м²	79,0 (56; 131)			84,0 (29; 133)		0,634

Взаимосвязи частоты нарушения функции почек и группами, выделенными в зависимости от генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668), а также их комбинаций выявлено не было (Таблица 3.33).

Таблица 3.33 - Частота выявления ХБП, разделенных в зависимости от генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) и их комбинаций

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
Сохранна, n (%)	28 (75,7)	15 (78,9)	0,532	14 (82,4)	29 (74,4)	0,389
Снижена, n (%)	9 (24,3)	4 (21,1)		3 (17,6)	10 (25,6)	
Комбинация генотипов						
	Высокого риска		Среднего риска		Низкого риска	p
Сохранна, n (%)	10 (83,3)		22 (73,3)		11 (76,8)	0,773
Снижена, n (%)	2 (16,7)		8 (26,7)		3 (21,4)	
	Комбинация аллелей					p
	3 или 4 аллели риска			Не более 2 аллелей риска		
Сохранна, n (%)	11 (84,6)			32 (74,4)		0,362
Снижена, n (%)	2 (15,4)			11 (25,6)		

При исследовании у больных ИМН ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 и комбинации генотипов и аллелей исследуемых генов со стадией ХБП достоверных различий между группами выявлено не было (Таблицу 3.34).

Таблица 3.34 - Стадии ХБП у больных ИМН, разделенных в зависимости от генотипа генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) и их комбинаций

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
1 стадия, n (%)	16 (43,2)	8 (42,1)	0,935	8 (47,1)	16 (41,0)	0,803
2 стадия, n (%)	12 (32,4)	7 (36,8)		6 (35,3)	13 (33,4)	
3 стадия, n (%)	9 (24,3)	4 (21,1)		3 (17,6)	10 (25,6)	
	Комбинации генотипов					p
	Высокого риска		Среднего риска		Низкого риска	
1 стадия, n (%)	6 (50,0)		12 (40,0)		6 (42,9)	0,962
2 стадия, n (%)	4 (33,3)		10 (33,3)		5 (35,7)	
3 стадия, n (%)	2 (16,7)		8 (26,7)		3 (21,4)	

Продолжение таблицы 3.34

	Комбинации аллелей		
	3 и 4 аллеля риска	Не более 2 аллелей риска	
1 стадия, n (%)	6 (46,2)	18 (41,9)	NS
2 стадия, n (%)	5 (38,5)	14 (32,6)	
3 стадия, n (%)	2 (15,4)	11 (25,6)	

Морфологическая стадия МН

Распределение по морфологической стадии МН пациентов в зависимости от генотипов полиморфных маркеров PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) и комбинации генотипов и аллелей исследуемых генов представлено в таблице 3.35, 3.36.

Таблица 3.35 - Частота морфологических стадий МН, разделенных в зависимости от генотипа генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	PLA2R1 (rs4664308)		P	HLA-DQA1 (rs2187668)		P
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
1 стадия, n (%)	5 (17,9)	1 (5,6)	NS	3 (21,4)	3 (9,4)	NS
2 стадия, n (%)	19 (67,9)	11 (61,1)		10 (71,4)	20 (62,5)	
3 стадия, n (%)	4 (14,3)	6 (33,3)		1 (7,1)	9 (28,1)	

Таблица 3.36 – Частота морфологических стадий МН, разделенных в зависимости от комбинации генотипов и аллелей генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	Комбинации генотипов			
	Высокого риска	Среднего риска	Низкого риска	
1 стадия, n (%)	2 (20,0)	4 (18,2)	0 (0,0)	NS
2 стадия, n (%)	7 (70,0)	15 (68,2)	8 (57,1)	
3 стадия, n (%)	1 (10,0)	3 (13,6)	6 (42,9)	
	Комбинации аллелей			
	3 и 4 аллеля риска	Не более 2 аллелей риска		
1 стадия, n (%)	2 (20,0)	4 (11,1)	NS	
2 стадия, n (%)	7 (70,0)	23 (63,9)		
3 стадия, n (%)	1 (10,0)	9 (25,0)		

Частота выявления 3 стадии МН у носителей комбинации низкого риска была выше, по сравнению с комбинациями среднего и высокого риска, однако, эти изменения не достигли статистической значимости (42,9% vs 13,6% и 10,0% соответственно).

Время, прошедшее от дебюта до выполнения пункционной биопсии почки

Результаты проведенного анализа ассоциации между временем, прошедшим до выполнения пункционной биопсии почки, и полиморфными маркерами генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) представлены в таблице 3.37.

Таблица 3.37 - Доля пациентов, биопсированных в первый год в зависимости от генотипов полиморфных маркеров генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
До года, n (%)	35 (94,6)	15 (71,4)	0,021	18 (100,0)	32 (80,0)	0,040
Год и больше, n (%)	2 (5,4)	6 (28,6)		0,0	8 (20,0)	

У больных с ИМН, являющиеся носителями генотипа A/A гена PLA2R1 (rs4664308) пункционная терапия проводилась в течение первого года в 94,6% случаев, когда как у носителей аллеля G – в 71,4% ($p=0,021$) (Рисунок 3.18).

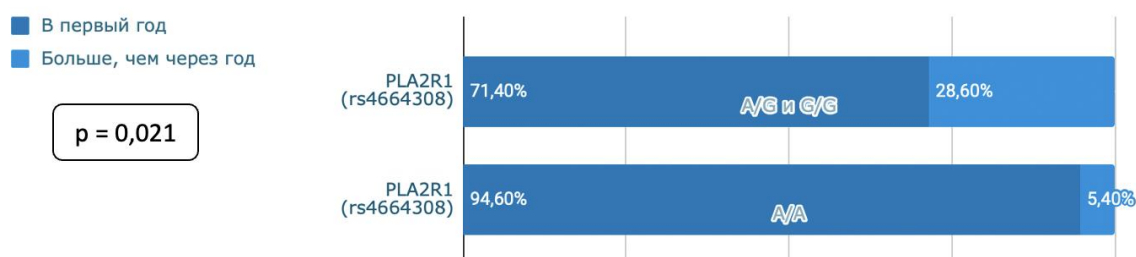


Рисунок 3.18 – Доля (в %) пациентов, биопсированных в первый год в зависимости от полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1

Аналогичная закономерность наблюдалась у носителей генотипа A/A гена HLA-DQA1 (rs2187668) по сравнению с носителями аллеля G (100,0% vs 80,0%, $p=0,040$) (Рисунок 3.19).

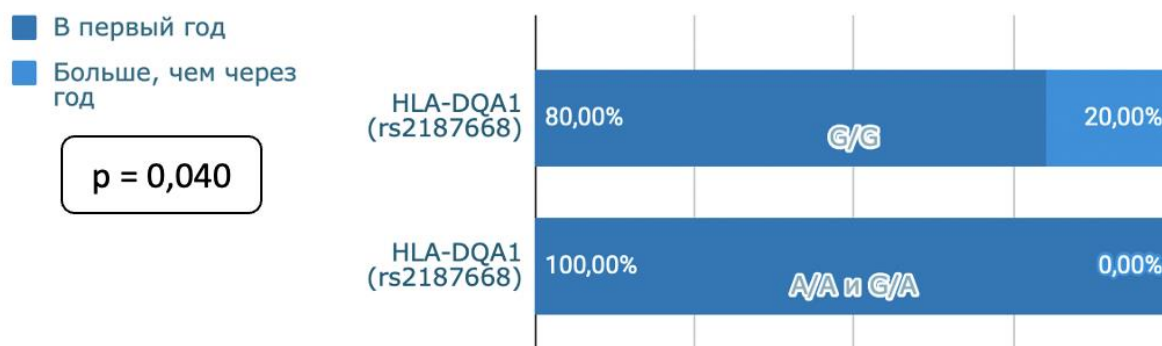


Рисунок 3.19 – Доля (в %) пациентов, биопсированных в первый год в зависимости от полиморфного маркера rs2186778 гена HLA-DQA1

Всем больным с комбинацией генотипа высокого риска выполнялась пункционная биопсия почки в течение первого года от дебюта заболевания, в отличие от пациентов с комбинации генотипов среднего и низкого риска (100% vs 92,6% и 64,7% соответственно, $p=0,008$). Аналогичная тенденция была вывалена у носителей 3 или 4 аллелей риска по сравнению с носителями не более 2 аллелей риска (100,0% vs 81,8%, $p=0,092$) (Таблица 3.38, Рисунок 3.20).

Таблица 3.38 – Доля пациентов, биопсированных в первый год в зависимости от комбинации генотипов и аллелей генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	Комбинация генотипов			p
	Высокого риска	Среднего риска	Низкого риска	
До года n (%)	14 (100,0)	25 (92,6)	11 (64,7)	0,008
Год и больше, n (%)	0 (0,0)	2 (7,4)	6 (35,3)	
	Комбинация аллелей		p	
	3 или 4 аллели риска	Не более 2 аллелей риска		
До года n (%)	14 (100,0)	36 (81,8)	0,092	
Год и больше, n (%)	0 (0,0)	8 (18,2)		

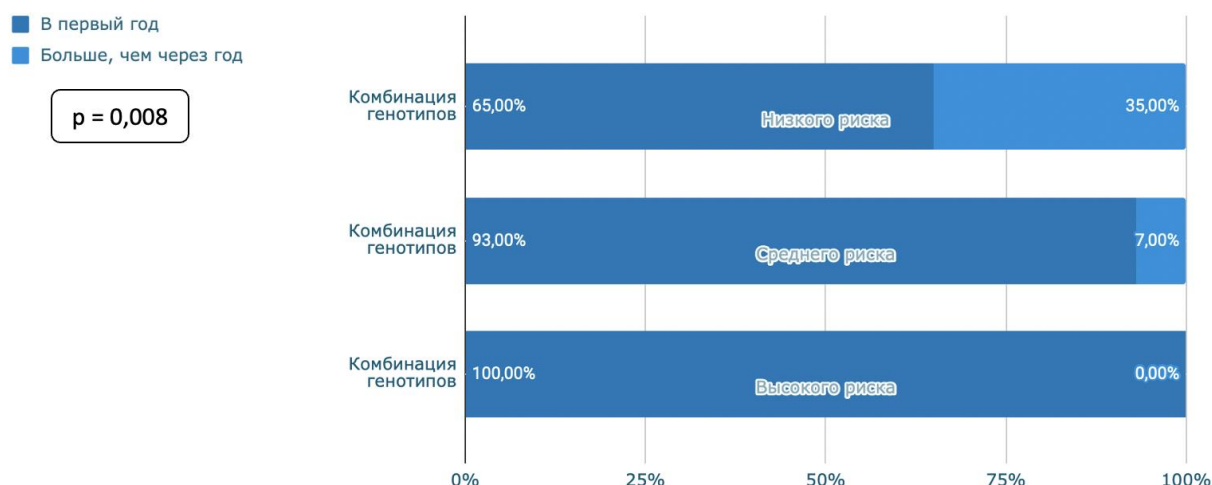


Рисунок 3.20 – Доля (в %) пациентов, биопсированных в первый год в зависимости от комбинации генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

3.4. Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с эффективностью иммуносупрессивной терапии

Изучение ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с эффективностью ИСТ проводилось у 40 больных. Среди них было 22 мужчин (55,0%) и 18 женщины (45,0%), а средний возраст больных на момент начала ИМН составил $47,0 \pm 14,9$ лет, средняя продолжительность наблюдения 75,8 (от 7 до 391) месяцев.

Распределение пациентов по ответу на ИСТ выглядело следующим образом: у 9 пациентов (22,5%) не было ответа на ИСТ, у 31 пациентов (77,5%) наблюдалась полная или частичная ремиссия НС. В исследуемых группах пациентов проводилось от 1 до 3 режима ИСТ, смена терапии проводилась при неэффективности предыдущего режима. Среди пациентов, у которых наступила ремиссия НС, у 17 человек (54,8%) удалось добиться ремиссии с помощью 1 режима ИСТ, а у 14 человек (45,2%) ремиссия настала только после проведение 2 и более режимов ИСТ.

При анализе клинических характеристик различий между группами, разделенными в зависимости от ответа на ИСТ, выявлено не было (Таблица 3.39).

Таблица 3.39 – Клинические характеристики пациентов в зависимости от ответа на ИСТ

	Нет ответа на ИСТ	Частичная или полная ремиссия	P
	n=9	n=31	
Мужчины/женщины, n (%)	7 (77,8)/2 (22,2)	15 (48,4)/16 (51,6)	NS
Возраст в дебюте, лет	50,4±17,1	46,0±14,4	0,439
Общий белок, г/л	48,0 (32; 76)	46,0 (37; 61)	0,643
Альбумин, г/л	27,3±9,5	24,9±5,8	0,368
СПУ, г/сут	4,0 (1,6; 7,9)	5,2 (2,5; 12,0)	0,205
Холестерин, ммоль/л	8,5±3,1	9,5±3,0	0,436
Систолическое АД, мм.рт.ст.	140,0 (120; 160)	130,0 (110; 200)	0,176
Диастолическое АД, мм.рт.ст.	90,0 (80; 100)	90,0 (70; 100)	0,614
АГ, n (%)	7 (77,8)	18 (60,0)	0,228
Креатинин, мкмоль/л	91,0 (64; 163)	77,0 (51; 218)	0,168
СКФ, мл/мин/1,73 м ²	75,0±19,9	86,8±26,3	0,228
Нарушение функции почек, n (%)	3 (33,3)	6 (22,2)	0,398

При анализе взаимосвязи типа ИСТ, получаемой на момент наступления ремиссии или последнего обследования, и ответа на лечение, обращало на себя внимание, что на фоне приема сочетанной «пульс»-терапии ЦФА и ПЗ удавалось добиться ремиссия чаще, чем применением других схем ИСТ (92,3%). (Таблица 3.40, Рисунок 3.21).

Таблица 3.40 – Ответ на ИСТ у больных ИМН, разделенных в зависимости от типа терапии

	Нет ответа на ИСТ	Частичная или полная ремиссия	P
	n (%)	n (%)	
ЦФА+ПЗ в виде «пульсов»	1 (7,7)	12 (92,3)	NS
ЦсА	5 (31,3)	11 (68,8)	
МФМ	1 (20,0)	4 (80,0)	
Ритуксимаб	2 (100,0)	0 (0,0)	

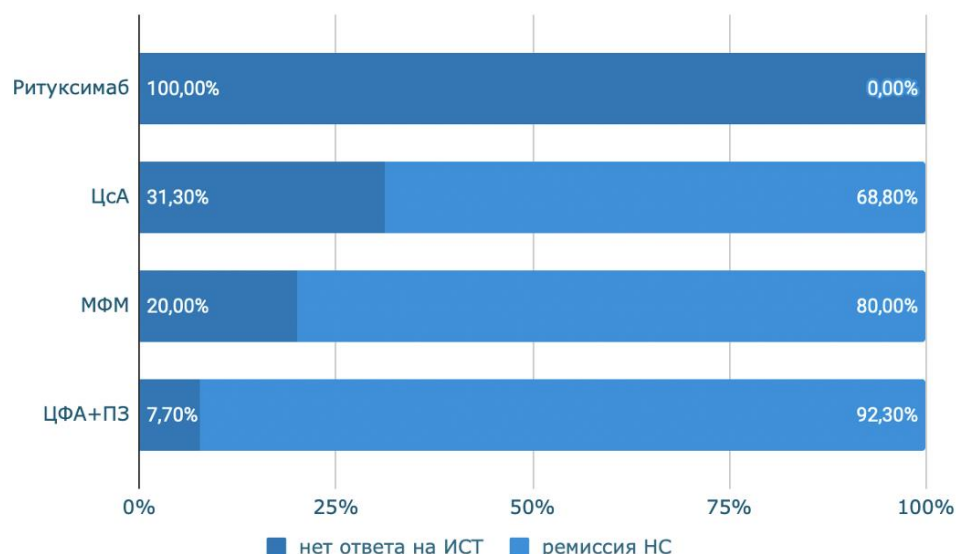


Рисунок 3.21 – Частота наступления ремиссии в зависимости от режима ИСТ

Результаты лечения пациентов с ИМН, получавших ИСТ, не различались в разных группах, выделенных в зависимости от генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1, а также комбинации генотипов и аллелей исследуемых генов, и обращало на себя внимание, что во всех группах преобладали пациенты, у которых наступала полная или частичная ремиссия ИС (от 74,2% до 88,9%) (Таблица 3.41).

Таблица 3.41 – Частота ответа на ИСТ у больных ИМН, разделенных в зависимости от генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) и их комбинаций

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
Нет ответа, n (%)	7 (25,0)	2 (16,7)	0,447	2 (14,3)	7 (26,9)	0,310
Ремиссия НС, n (%)	21 (75,0)	10 (83,3)		12 (85,7)	19 (73,1)	
	Комбинация генотипов					
	Высокого риска		Среднего риска		Низкого риска	p
Нет ответа, n (%)	2 (18,2)		5 (25,0)		2 (22,2)	0,625
Ремиссия НС, n (%)	9 (81,8)		15 (75,0)		7 (77,8)	
	Комбинация аллелей					
	3 или 4 аллели риска			Не более 2 аллелей риска		p
Нет ответа, n (%)	2 (18,2)			7 (24,1)		0,523
Ремиссия НС, n (%)	9 (81,8)			22 (75,9)		

Однако для достижения ремиссии носителям генотипа риска A/A гена HLA-DQA1 (rs2187668) приходилось использовать 2 и более режима ИСТ в 2 раза чаще, чем носителям аллеля G (75,0% vs 34,8%, $p=0,049$) (Таблица 3.42, Рисунок 3.22).

Таблица 3.42 – Частота смены режима ИСТ у больных ИМН, разделенных в зависимости от генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
Нет, n (%)	9 (50,0)	4 (44,4)	0,503	3 (25,0)	14 (73,7)	0,011
Да, n (%)	9 (50,0)	5 (55,6)		9 (75,0)	5 (26,3)	

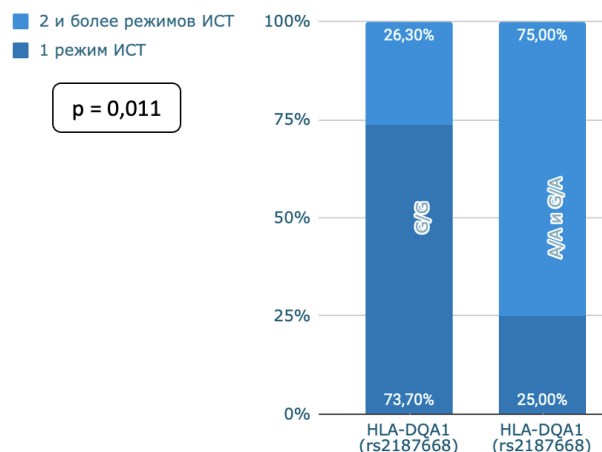


Рисунок 3.22 - Распределение количества режимов ИСТ, проводимых для достижения ремиссии (в %), в зависимости от полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1

Похожие различия наблюдались при анализе комбинации генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668), а именно, у пациентов с комбинации генотипов высокого риска достижение ремиссии сопровождалось сменой режима ИСТ почти в 2 раза чаще, чем у пациентов с комбинацией низкого риска, однако, данные изменения не достигли статистической значимости (Таблица 3.43).

Таблица 3.43 – Частота смены режима ИСТ у больных ИМН, разделенных в зависимости от комбинации генотипов полиморфных маркеров генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	Комбинация генотипов			p
	Высокого риска	Среднего риска	Низкого риска	
Нет, n (%)	2 (22,2)	11 (73,3)	4 (57,1)	NS
Да, n (%)	7 (77,8)	4 (26,7)	3 (42,9)	
	Комбинация аллелей		p	
	3 или 4 аллели риска	Не более 2 аллелей риска		
Нет, n (%)	2 (22,2)	15 (68,2)	0,026	
Да, n (%)	7 (77,8)	7 (31,8)		

При разделении больных ИМН на группу носителей 3 и 4 аллелей риска и группу носителей не более 2 аллелей риска комбинации обоих генов отмечено, что у носителей не более 2 аллелей риска смена ИСТ проводилась в 2 раза реже по сравнению с носителями 3 или 4 аллелей риска (Таблица 3.44, Рисунок 3.23).

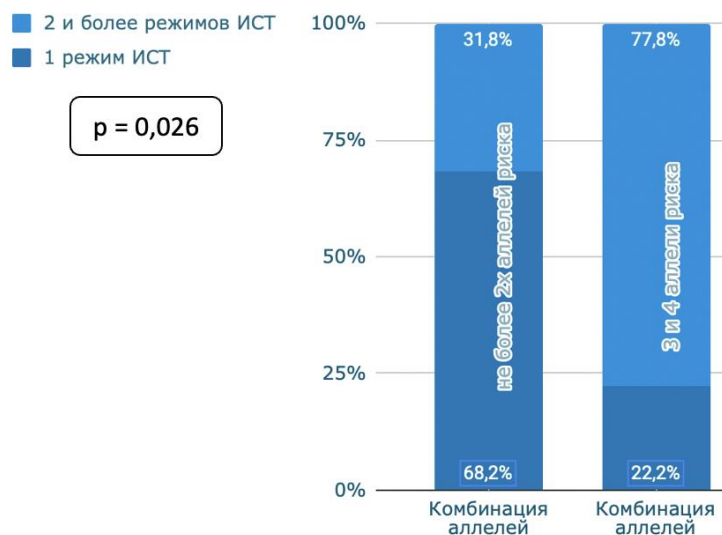


Рисунок 3.23 – Распределение количества курсов ИСТ, проводимых для достижения ремиссии (в %) в группах, разделенных по количеству аллелей риска комбинации генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

Среднее время, прошедшее от начала лечения до наступления ремиссии составило 31,1 мес (от 3 месяцев до 13 лет). У пациентов с генотипом A/A и генотипами A/G и G/G гена PLA2R1 (rs4664308) разницы между временем от начала лечения до наступления ремиссии не выявлено (17,3 (6; 170) и 14,6 (6; 33), $p=0,603$). Аналогичные данные были получены при анализе гена HLA-DQA1 (rs2187668): разница во времени между генотипом A/A и генотипами G/A и G/G была не существенной (19,3 (6; 94) и 14,0 (6; 170) соответственно, $p=0,275$).

У пациентов с комбинацией генотипов исследуемых генов высокого была выявлена тенденция, указывавшая на то, что время, проходившее от начала лечения до наступления ремиссии, было выше по сравнению с комбинациями среднего и низкого риска (21,3 (9; 121) vs 11,0 (6; 170) и 15,3 (11; 101) соответственно, $p=0,060$).

При разделении больных ИМН на группу носителей 3 и 4 аллелей риска и группу носителей не более 2 аллелей риска комбинации обоих генов было выявлено значимые различия во времени, прошедшем от начала лечения до наступления ремиссии: у пациентов, которые имели не более 2 аллелей риска, для достижения ремиссии потребовалось меньше времени, чем пациентам, которые имели 3 или 4 аллели риска (13,1 (6; 170) vs 21,3 (9; 121), $p=0,033$) (Рисунок 3.24).

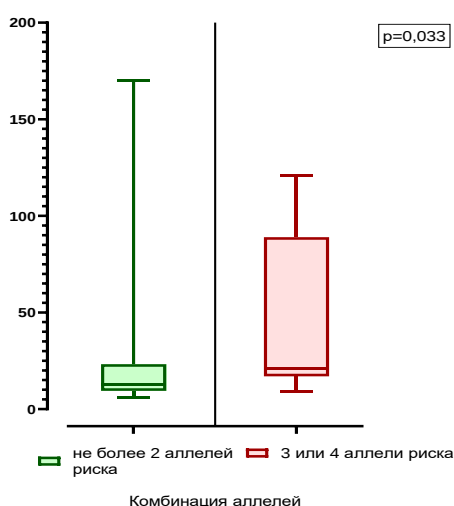


Рисунок 3.24 - Среднее значение времени, прошедшего от начала лечения до наступления ремиссии, у больных ИМН в группах, разделенных по количеству аллелей риска комбинации генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

При дополнительном анализе было отмечено, что у носителей аллеля риска А гена HLA-DQA1 (rs2186778) ремиссии в первый год лечения удавалось достичь реже по сравнению с носителями генотипа G/G (16,7% vs 52,6%, $p=0,050$) (Таблица 3.44, Рисунок 3.25).

Таблица 3.44 – Частота (в %) наступления ремиссии в первый год у больных ИМН, разделенных в зависимости от генотипов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	PLA2R1 (rs4664308)		p	HLA-DQA1 (rs2187668)		p
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
В первый год, n (%)	9 (42,9)	3 (30,0)	0,389	2 (16,7)	10 (52,6)	0,050
Больше года, n (%)	12 (57,1)	7 (70,0)		10 (83,3)	9 (47,4)	

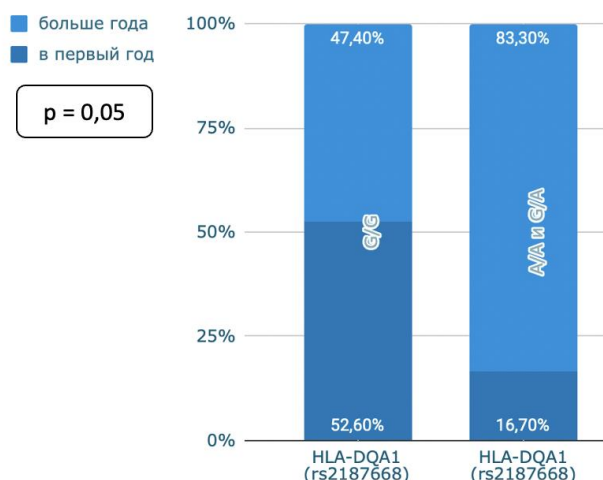


Рисунок 3.25 – Распределение наступления ремиссии в первый год от начала лечения (в %) в группах, разделенных по генотипу полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1

У больных с комбинацией 3 и 4 аллелей риска исследуемых генов частота развития ремиссии в первый год от начала лечения была реже, по сравнению с больными с не более 2 аллелями риска (11,1% vs 50,0%, $p=0,050$) (Таблица 3.45, Рисунок 3.26).

Таблица 3.45 – Частота (в %) наступления ремиссии в первый год у больных ИМН, разделенных в зависимости от комбинации генотипов и аллелей генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	Комбинация генотипов			
	Высокого риска	Среднего риска	Низкого риска	p
В первый год, n (%)	1 (11,1)	9 (60,0)	2 (28,6)	NS
Больше года, n (%)	8 (88,9)	6 (40,0)	5 (71,4)	
	Комбинация аллелей			
	3 или 4 аллели риска	Не более 2 аллелей риска		p
В первый год, n (%)	1 (11,1)	11 (50,0)		0,050
Больше года, n (%)	8 (88,9)	11 (50,0)		

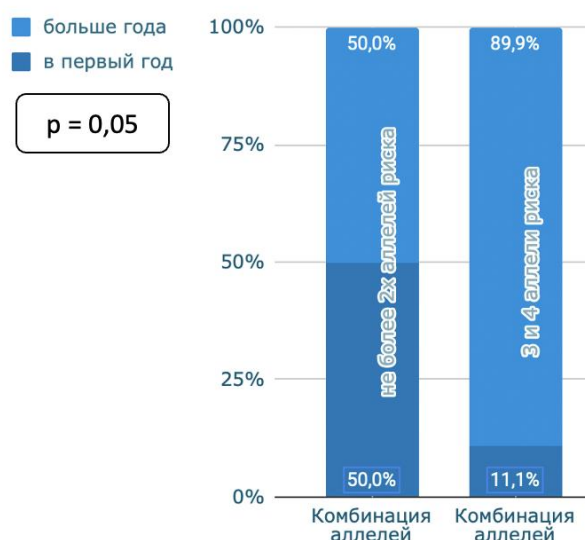


Рисунок 3.26 – Распределение наступления ремиссии в первый год от начала лечения (в %) в группах, разделенных в зависимости от комбинации аллелей генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

3.5. Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 со скоростью прогрессирования дисфункции почек при идиопатической мембранозной нефропатии

Были проанализированы влияния носительства различных генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1, а также их комбинаций на прогрессирование дисфункции почек. Из 53 1 14 больных отмечался переход в более продвинутой стадии ХБП. Вреия наблюдения за больными ИМН составила от 6 мес. до 10 лет.

При сравнительном анализе распределения генотипов полиморфных маркеров PLA2R1 (rs4664308), HLA-DQA1 (rs2187668) и их комбинаций в зависимости от прогрессирования дисфункции почек статистически значимых различий выявлено не было. Результаты представлены в таблице 3.46, 3.47.

Таблица 3.46 – Доля людей, у которых было выявлено прогрессирование дисфункции почек, в зависимости от генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

	PLA2R1 (rs4664308)		р	HLA-DQA1 (rs2187668)		р
	A/A	A/G и G/G		A/A и G/A	G/G	
Нет прогрессирования, n (%)	27 (73,0)	12 (75,0)	0,582	10 (58,8)	29 (80,6)	0,092
Есть прогрессирование, n (%)	10 (27,0)	4 (25,0)		7 (41,2)	7 (19,4)	

Таблица 3.47 – Доля людей, у которых было выявлено прогрессирование дисфункции почек, в зависимости от комбинации генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668)

Комбинация генотипов				
	Высокого риска	Среднего риска	Низкого риска	р
Нет прогрессирования, п (%)	8 (61,5)	21 (75,0)	10 (83,3)	0,452
Есть прогрессирование, п (%)	5 (38,5)	7 (25,0)	2 (16,7)	
	Комбинация аллелей			р
	3 или 4 аллели риска		Не более 2 аллелей риска	
Нет прогрессирования, п (%)	8 (57,1)		31 (79,5)	0,103
Есть прогрессирование, п (%)	6 (42,9)		8 (20,5)	

Статистических различий почечной выживаемости в группах больных, разделенных по генотипу полиморфных маркеров PLA2R1 (rs4664308), HLA-

DQA1 (rs2187668) и их комбинаций выявлено не было (Рисунок 3.27, 3.28, 3.29, 3.30).

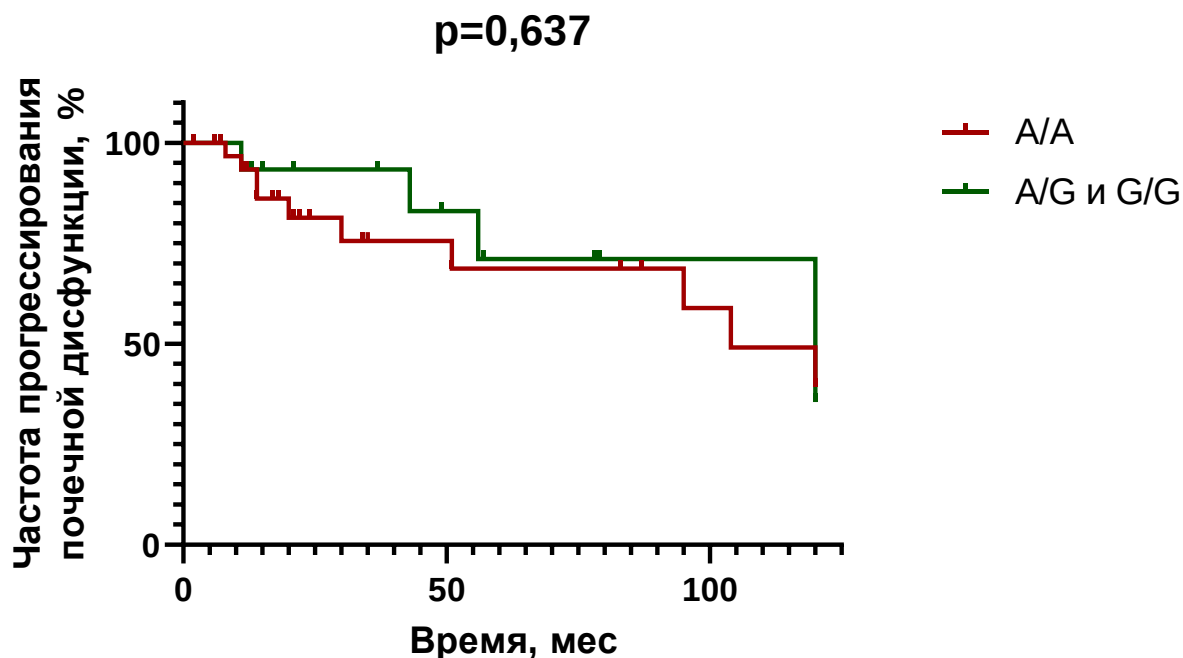


Рисунок 3.27 – Прогрессирование почечной дисфункции у больных ИМН в зависимости от генотипа полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1

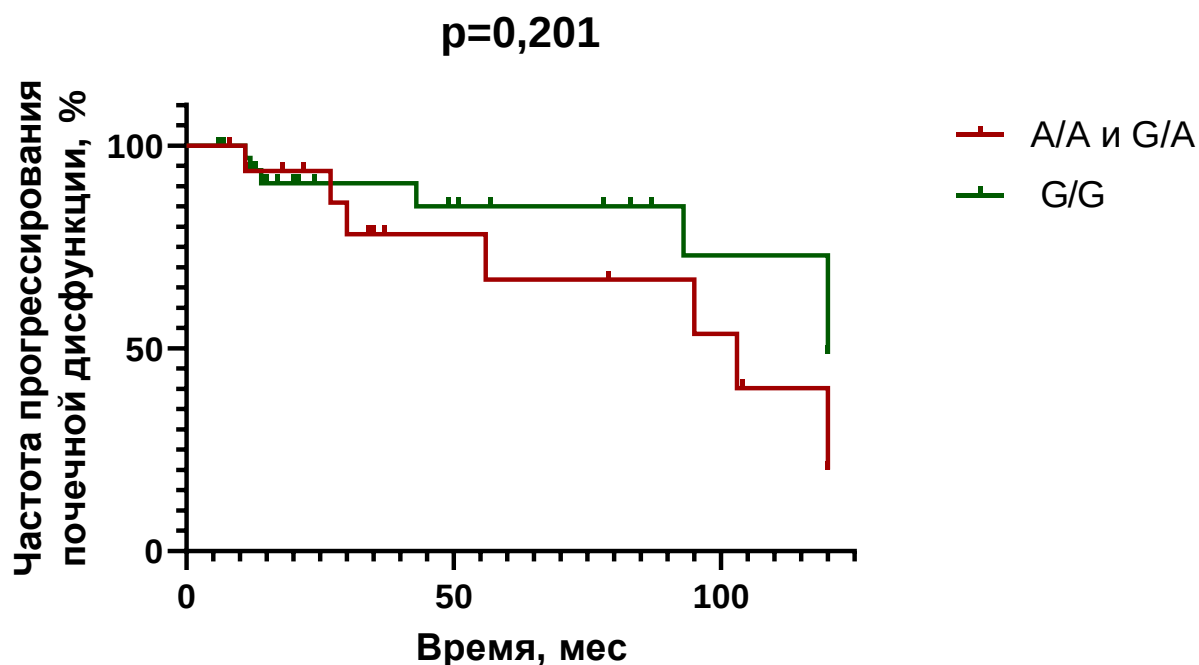


Рисунок 3.28 - Прогрессирование почечной дисфункции у больных ИМН в зависимости от генотипа полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1

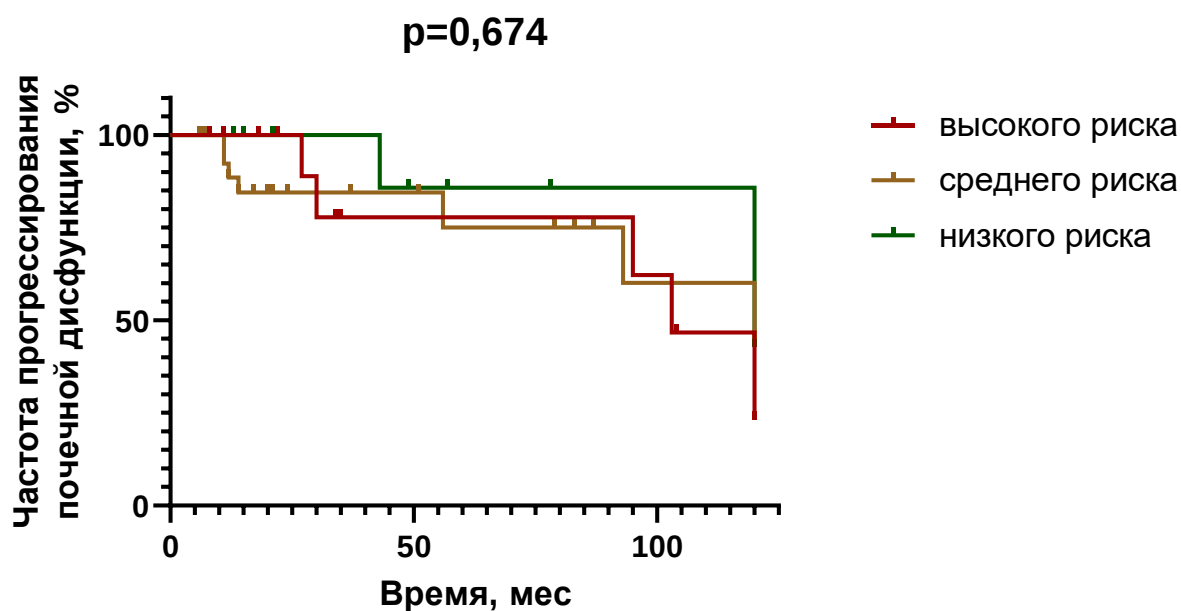


Рисунок 3.29 – Прогрессирование почечной дисфункции у больных ИМН в зависимости от комбинации генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1

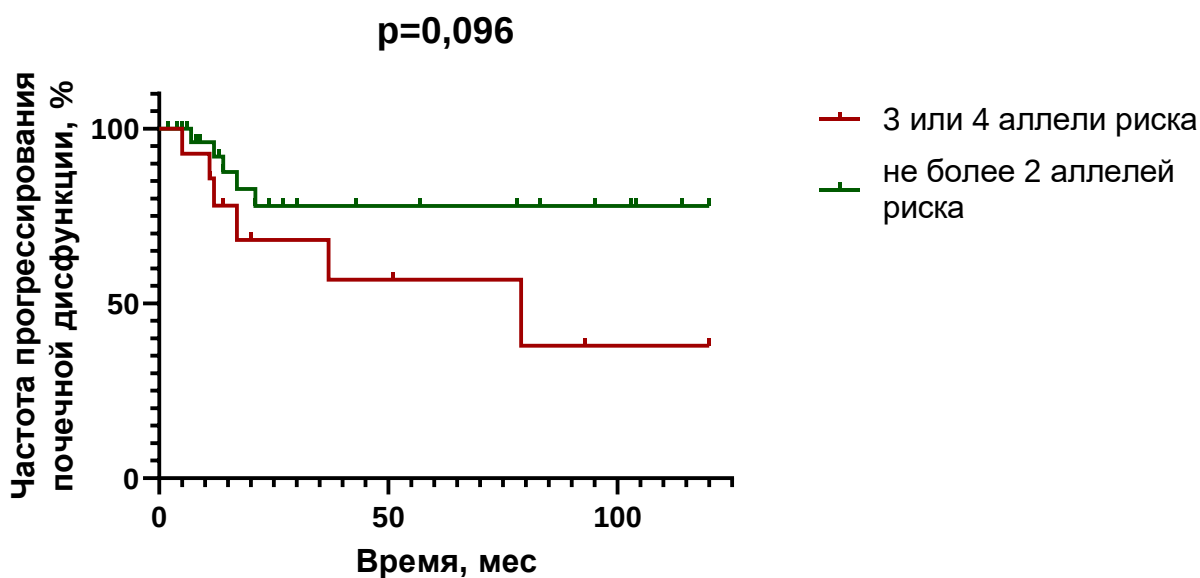


Рисунок 3.30 – Прогрессирование почечной дисфункции у больных ИМН в зависимости от комбинации генотипов полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1

С помощью монофакторного регрессионного анализа были выделены факторы, обладающие неблагоприятным прогностическим значением, такие

как уровень креатинина и САД на момент постановки диагноза, возраст дебюта ИМН (Таблица 3.48).

Таблица 3.48 - Монофакторный анализ влияния клинических факторов на прогрессирование почечной дисфункции у больных ХГН (регрессионная модель Кокса)

Фактор	Exp(B)	95% ДИ	p
Мужской пол	1,46	(0,50-4,24)	0,485
Начало заболевания старше 50 лет	3,16	(0,97-10-31)	0,056
Наличие АГ на момент постановки диагноза	1,63	(0,51-5,21)	0,409
Персистирование ПУ более 6 месяцев	20,20	(1,15-354,93)	0,040
Ответ на терапию	0,44	(0,11-1,72)	0,436
Нарушение функции почек на момент постановки диагноза	2,83	(0,37-22,43)	0,312

При одномоментном включении всех факторов (методом enter) с помощью многофакторного анализа, отмечалось, что у больных ИМН начало заболевания старше 50 лет ($p=0,081$), персистирование ПУ более 6 месяцев ($p=0,042$) являлись независимыми факторами риска прогрессирования нарушения функции почек ($p=0,043$) (Таблица 3.49).

Таблица 3.49 - Многофакторный анализ влияния клинических факторов на почечную выживаемость у больных ХГН (регрессионная модель Кокса)

Фактор	Exp(B)	95% ДИ	p
Носительство генотипа A/A гена PLA2R1	1,81	0,10-3,45	0,691
Носительство аллеля A гена HLA-DQA1	2,28	0,34-15,15	0,395
Мужской пол	1,54	0,19-12,86	0,689
Начало заболевания старше 50 лет	7,81	0,78-7,69	0,081
Наличие АГ на момент постановки диагноза	1,20	0,14-10,64	0,868
Персистирование ПУ более 6 месяцев	129,17	1,16-14427,34	0,042
Ответ на терапию	8,64	0,59-126,12	0,115
Нарушение функции почек на момент постановки диагноза	11,03	0,53-229,17	0,121

При пошаговом включении (метод Forward LR) наиболее адекватная модель ($-2 \log LG = 31,94$, $\chi^2=16,30$, $p=0,003$) включала в себя возраст начала заболевания старше 50 лет ($p=0,041$), персистирование ПУ более 6 месяцев ($p=0,026$), ответ на терапию ($p=0,060$) и нарушение функции почек, выявленную на момент установления диагноза ($p=0,048$) (Таблица 3.50).

Таблица 3.50 – Многофакторный анализ влияния клинических факторов на почечную выживаемость у больных ХГН (регрессионная модель Кокса)

Фактор	Exp(B)	95% ДИ	p
Начало заболевания старше 50 лет	10,53	1,10-100,00	0,041
Персистирование ПУ более 6 месяцев	79,35	1,76-3690,59	0,026
Ответ на терапию	6,36	0,92-44,00	0,060
Нарушение функции почек на момент постановки диагноза	11,51	1,02-129,23	0,048
Факторы, удаленные из анализа			
Носительство генотипа A/A гена PLA2R1			
Носительство аллеля A гена HLA-DQA1			
Мужской пол			
Наличие АГ на момент постановки диагноза			

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с генетической предрасположенностью к развитию ИМН

В настоящее время этиология и патогенез ИМН до конца не изучены, и продолжают поиски механизмов развития заболевания и обнаружение факторов, обуславливающих характер течения и особенность ответа на ИСТ. В настоящее время обсуждается генетическая детерминированность заболевания. Многочисленные исследования указывают на важную роль генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) в развитии МН. Так существует ряд работ, которые показали ассоциацию данных генов с развитием ИМН в популяциях Восточной Азии и европейской популяции [12, 45, 62, 83, 95, 106]. Однако существуют различия в степени риска, а также в связи с клиническими проявлениями, ответом на ИСТ и исходом заболевания у представителей разных популяций. В нашей работе впервые в российской популяции исследован характер распределения аллелей и генотипов полиморфных маркеров PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) пациентов с ИМН, здоровых доноров и пациентов с другими морфологическими вариантами ГН, проанализирована ассоциация генотипов риска данных генов с выработкой АТ к PLA2R, клинической картиной, ответом на ИСТ и прогрессированием ХБП у пациентов с ИМН.

В ходе выполнения работы было исследовано 70 пациента с ИМН, 40 пациентов с другими вариантами ХГН и 100 человек – здоровых доноров, наблюдавшихся в клинике ревматологии, нефрологии и профпатологии им. Е.М. Тареева Первого Московского государственного университета им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет).

Мы обнаружили, что в российской и европейской популяции частота встречаемости аллеля А гена PLA2R1 (rs4664308), аллеля риска при ИМН,

была несколько ниже, чем в китайской популяции и популяции Индии, и составила 71,3-81,4% и 85,0-89,3% соответственно [12, 62, 83, 106].

При сравнительном анализе частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 у больных ИМН, в контрольной группе и у пациентов с другими вариантами ХГН была выявлена статистически значимое увеличение частоты аллеля А и генотипа А/А у больных ИМН. В нашем исследовании мы обнаружили увеличение риска развития заболевания у пациентов носителей аллеля риска А гена PLA2R1 (rs4664308) по сравнению со здоровыми донорами в 3 раза, а генотипа А/А исследуемого гена – в 4 раза. При аналогичном сравнении больных ИМН с пациентами с другими морфологическими вариантами ГН мы получили увеличение риска развития ИМН почти в 5 раз у носителей аллеля риска и в 3 раза у носителей генотипа риска полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1.

Обращает на себя внимание, что аллелем риска при ИМН является дикий аллель А гена PLA2R1, что объясняется гипотезой, что к развитию заболевания приводит не мутантный аллель, а определенная комбинация общих полиморфизмов, которая образует редкие гаплотипы высокого риска [16, 96].

При анализе распределения аллелей полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 обращали на себя внимание расовые различия. В российской популяции частота встречаемости аллеля риска А была аналогична распределению, полученную в работах европейских авторов [12, 83, 106], и составляла 23,6% - 42,0%. В то же время в японской и китайской популяциях доля носителей аллеля риска А среди больных ИМН была ниже, чем в белой популяции, и составляла 6% и 12% соответственно [45, 62].

В нашем исследовании при сравнении больных ИМН и здоровых доноров частота аллеля А и генотипа А/А гена HLA-DQA1 (rs2187668) была выше в группе больных ИМН, а носительство данного аллеля и генотипа

ассоциировалось с повышенным риском ИМН в 5 раз и в 10 раз соответственно. При аналогичном сравнении больных ИМН с пациентами с другими морфологическими формам ГН мы отмечали увеличение риска ИМН у носителей аллеля А в 5 раз, а у носителей генотипа А/А в 8 раз.

Обращало на себя, что риски развития ИМН были выше при носительстве аллеля и генотипа риска гена HLA-DQA1 (rs2187668), чем гена PLA2R1 (rs4664308). Это можно объяснить тем, что замены в гене HLA-DQA1 приводит к выработке АТ, мишенью которых является не только PLA2R, но и другие еще не идентифицированные антигены. Полученные данные сопоставимы с данными Stanescu H.C. и Bullich G., где вышеуказанные ассоциации были исследованы во французский, британской, голландской и испанской популяциях [12, 106].

Мы предполагаем, что у носителей аллеля риска гена HLA-DQA1 происходит презентация изменённого эпитопа PLA2R в результате замены в гене PLA2R1 иммунокомпетентным клеткам, что в свою очередь приводит к выработке АТ к данному эпитопу и развитию иммунокомплексного поражения почек при ИМН. Таким образом, комбинация аллелей риска в обоих генах PLA2R1 и HLA-DQA1 у одного и того же человека может обойти жестко регулируемую адаптивную иммунную систему и способствовать развитию заболевания. В пользу этой теории свидетельствуют результаты нашей работы, показывающие увеличение риска развития ИМН у лиц, являющимися одновременно носителями аллеля риска А полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 и генотипа риска А/А полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 в 18 раз.

Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с выработкой АТ к PLA2R

В нашем исследовании у 78,8% пациентов с ИМН, у которых исследовались АТ к PLA2R, было выявлено их повышение, что

согласовывается с данными ученых из США и Нидерландов [7, 36]. Пациенты с положительными АТ к PLA2R оказались значительно старше пациентов с отрицательными АТ ($p=0,026$). Уровень АТ к PLA2R либо слабо коррелировал или не коррелировал вообще с клинической картиной ИМН: у больных с положительными АТ к PLA2R СКФ оказалась ниже ($p=0,075$), но она слабо коррелировала с титрами АТ ($r=-0,388$, $p=0,028$) и, по-видимому, было связано с тем, что данные пациенты были старше.

Поскольку ключевым антигеном при ИМН является PLA2R интерес представлял изучение связи кодирующего его полиморфизма с выработкой АТ. В нашей работе мы дополнительно оценили риск развития ИМН у PLA2R-положительных пациентов. Отмечалось, что у носителей генотипа риска A/A гена PLA2R1 (rs4664308) в сочетании с положительными АТ к PLA2R риск развития ИМН был выше, чем в общей группе пациентов (ОШ=3,88 (95% ДИ 1,69-8,94), $p<0,001$ vs ОШ=5,27 (95% ДИ 2,02-13,77), $p<0,001$). Полученные данные можно рассматривать как косвенное свидетельство вклада влияние гена PLA2R1 (rs4664308) в выработку АТ к PLA2R.

В нашем исследовании мы обнаружили, что положительные АТ к PLA2R выявлялись в 3 раза чаще у носителей гомозигот по аллелю риска гена PLA2R1 (rs4664308), чем у носителей генотипов A/G и G/G (76,9% vs 23,1%, $p=0,052$), что подкрепляет гипотезу о вкладе данного гена в выработку АТ к PLA2R.

Так же мы отметили, что у больных с комбинацией генотипов высокого риска положительные АТ к PLA2R встречались в 1,5 раза чаще, чем у больных с комбинацией генотипов низкого риска (23,1% vs 15,4%). К сожалению, полученные нами результаты не достигли статистической значимости из-за малого количества наблюдений, однако, они согласуются с результатами, полученными китайскими авторами и авторами из Индии [62, 83].

Обращало на себя внимание, что при анализе распределения частот генотипов различия были выше в группе больных, разделенных в зависимости

от генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1, чем от генотипов полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1, что говорит о более тесной связи гена PLA2R1 (rs4664308) с выработкой АТ к PLA2R, чем гена HLA-DQA1 (rs2187668). Эту гипотезу подтверждают полученные нами данные, показавшие, что у пациентов с генотипом A/A гена PLA2R1 титры АТ чаще были выше 1:80, чем у носителей аллеля G (80,0% vs 33,3%, $p=0,051$), однако, из-за малого количества пациентов оценка статистической значимости не представляется возможной. При более детальном анализе мы отметили, что носители аллеля A гена PLA2R1 (rs4664308) чаще имели титры АТ к PLA2R больше 1:80 даже если были носителями генотипа G/G гена HLA-DQA1 (rs2187668), что так же косвенно указывает на правомерность нашей гипотезы.

Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с клинической картиной ИМН

Существует мало работ, в которых была проанализирована ассоциация клинической картины ИМН с носительством генотипов риска полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1. В работе китайских авторов была выявлена связь генотипов PLA2R1 (rs4664308) с возрастом начала, морфологической стадией МН и уровнем креатинина, связь генотипов HLA-DQA1 (rs2187668) с ДАД и связь комбинации генотипов с морфологической стадией МН [62]. Остальные клинические показатели, такие как СПУ, альбумин, креатинин, ХС крови не ассоциировались с полиморфными маркерами rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 и их комбинациями

В нашем исследовании при сравнении возраста начала ИМН у пациентов, распределённых в зависимости от генотипов полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1, а также их комбинации, отмечалась тенденция к более частому возникновению ИМН в более молодом возрасте у носителей аллеля G гена PLA2R1 по сравнению с

носителями генотипа A/A (доля пациентов моложе 50 лет 70,0% vs 45,0%, $p=0,059$). Подобная закономерность сохранялась в группе больных с комбинацией генотипов низкого риска (доля пациентов моложе 50 лет 80,0% vs 41,9% и 50,0%, $p=0,051$).

Мы обнаружили, что у носителей генотипа риска A/A гена PLA2R1 (rs4664308), комбинации генотипов высокого риска и у носителей 3 или 4 аллелей риска выраженность НС была сильнее. У пациентов с генотипом A/A гена PLA2R1 (rs4664308) уровень СПУ была выше, чем у носителей аллеля G (5,4 (2,4;16,5) vs 3,8 (1,4;12,0), $p=0,048$) и частота пациентов с ПУ более 4 г/сут была больше (75,7% vs 47,4%, $p=0,035$) и отмечалась тенденция к более низким значениям альбумина крови ($24,1\pm 5,7$ vs $27,6\pm 9,4$, $p=0,092$) и более высоким значениям ХС крови ($9,7\pm 2,9$ vs $8,2\pm 2,5$, $p=0,090$). У носителей комбинации генотипов высокого риска по сравнению с комбинациями среднего и низкого риска и у носителей 3 или 4 аллелей риска по сравнению с носителями не более 2 аллелей риска частота пациентов с ПУ более 4 г/сут была больше (92,3% vs 65,5% и 42,9%, $p=0,025$ и 92,9% vs 57,1%, $p=0,013$ соответственно). Аналогичная тенденция была выявлена у носителей аллеля риска A гена HLA-DQA1 (rs2187668) по сравнению с носителями генотипа G/G (ПУ более 4 г/сут 83,3% vs 57,9%, $p=0,055$).

Так же обращало на себя внимание, что доля пациентов, биопсированных в первый год от начала заболевания преобладала у носителей генотипа риска A/A PLA2R1 (rs4664308) по сравнению с носителями аллеля G (94,6% vs 71,4%, $p=0,021$), у носителей аллеля риска A гена HLA-DQA1 (rs2187668) по сравнению с носителями генотипа G/G (100,0% vs 80,0%, $p=0,020$) и у носителей комбинации генотипов исследуемых генов высокого риска по сравнению с комбинациями среднего и низкого риска (100% vs 93% и 65%, $p=0,008$). Полученные данные могут свидетельствовать в пользу того, что у носителей генотипов и аллелей риска исследуемых генов и их

комбинации высокого риска имели более тяжелое течение НС, в связи с чем пункционная биопсия в этой группе проводилась раньше.

Средние значения САД и ДАД в группе больных, разделенных по генотипам гена PLA2R1 (rs4664308) и комбинациям исследуемых генов, были сопоставимы. Отмечалась тенденция к более высоким значениям САД у пациентов с генотипом G/G гена HLA-DQA1 (rs2187668), хотя в работе китайских авторов более высокие уровни АД наблюдались у носителей аллеля риска, что требует дальнейшего уточнения [62]. При разделении АГ на стадии статистически значимых различий между группами больных, разделенных в зависимости от генотипов исследуемых генов, а также их комбинации выявлено не было.

В нашем исследовании мы оценили нарушение функции почек на момент установления диагноза ИМН. Средние значения креатинина крови и расчетной СКФ не отличались между исследуемыми группами. Таким образом, мы не обнаружили существенной связи между нарушением функции почек на момент установления диагноза и генотипами исследуемых генов и их комбинаций. При анализе морфологической стадии мы так же не отмечали связи с носительством аллелей и генотипов риска исследуемых генов, что согласуется с результатами китайских авторов [62].

Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с ответом на ИСТ

Агрессивная ИСТ глюкокортикостероидами и иммунодепрессантами, такими как ЦФА [77] или ЦсА [28], вызывает много побочных эффектов [3, 43, 44, 82], поэтому важно идентифицировать возможные мишени для открытия новых таргетных препаратов, а так же определить факторы, обуславливающие ответ на ИСТ.

В качестве одной из причин, определяющих различный ответа на ИСТ, в настоящее время обсуждают носительство определенного генотипа генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668). Испанские авторы показали связь комбинации генотипов A/A и A/G PLA2R1 (rs4664308) и генотипа A/A гена HLA-DQA1 (rs2187668) с наступлением полной или частичной ремиссией [12].

В нашем исследовании данные полиморфизмы не были связаны с ответом на ИСТ, по-видимому, полученные результаты связаны с тем, что у наших больных во всех группах, разделенных в зависимости от генотипов полиморфных маркеров исследуемых генов и их комбинаций, часто наступала полная или частичная ремиссия НС – в 74,2 - 88,9% случаев.

Обращало на себя внимание, что у носителей аллеля А гена HLA-DQA1 (rs2187668) для наступления ремиссии приходилось проводить 2 и более режимов ИСТ в 2,5 раза чаще по сравнению с носителями генотипа G/G (75,0% vs 26,3%, $p=0,049$), а время, прошедшее от начала лечения до наступления ремиссии, у данной группы пациентов чаще превышала 1 год по сравнению с носителями генотипа G/G (83,3% vs 47,4%, $p=0,050$).

Аналогичные данные были получены при сравнении носителей комбинации 3 и 4 аллелей риска исследуемых генов с носителями не более 2 аллелей риска: для первой группы приходилось чаще прибегать к 2 и более режима ИСТ для достижения ремиссии по сравнению со второй группой (77,8% vs 31,8%, $p=0,026$). При этом у носителей 3 и 4 аллелей риска от начала лечения до достижения ремиссии проходило больше года до наступления ремиссии, чем у носителей не более 2 аллелей риска (88,9% vs 50%, $p=0,050$).

Полученные нами данные говорят о том, что у пациентов с аллелем риска А гена HLA-DQA1 (rs2187668) и комбинацией 3 или 4 аллелей риска исследуемых генов для достижения ремиссии приходилось применять более агрессивное и длительное лечение.

Анализ ассоциации полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 с прогрессированием дисфункции почек

Течение ИМН может приводит к прогрессированию дисфункции почек вплоть до тХПН даже несмотря на адекватную ИСТ. В настоящее время известны маркеры раннего выявления пациентов, находящихся в группе риска прогрессирования заболевания, такие как морфологическая стадия МН, выраженность НС и наличие сопутствующей патологии [63, 85]. Мы предполагали, что генотипы генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) могут стать прогностическими факторами ХБП при ИМН, однако, в нашем исследовании данная гипотеза о наличии связи исследуемых генов, а так же их комбинаций, с почечной прогрессированием дисфункции почек не подтвердилась.

Подобные результаты также были получены ранее в ряде других исследований [51, 62]. В то же время существование ряд работ, в которых была обнаружена связь полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 со скоростью прогрессирования поражения почек [12], что заставляет искать новые методологические подходы для решения данной проблемы, увеличивая продолжительность наблюдения за пациентами, а так же увеличивая выборку больных ИМН.

При многофакторном анализе наиболее адекватная модель включала в себя дебют заболевания в возрасте старше 50 лет, персистирование ПУ более 6 месяцев, нарушение функции почек на момент установления диагноза и ответ на ИСТ, что согласуется с работами европейских и китайских авторов [51, 61, 75, 115]. По-видимому, гены PLA2R1 и HLA-DQA1 в больше мере влияют на развитие и клинические особенности заболевания, чем на прогрессирование нарушения функции почек, которое объясняется общими факторами риска.

ВЫВОДЫ

1. Генетическая предрасположенность к развитию ИМН ассоциирована с вариантами генов, потенциально ответственных за синтез специфического подоцитарного антигена — рецептора фосфолипазы A2 M-типа (ген PLA2R1) и антител к нему (ген главного комплекса гистосовместимости HLA-DQA1). Носительство аллеля A и генотипа A/A полиморфного маркера rs4664308 гена PLA2R1 и полиморфного маркера rs2187668 гена HLA-DQA1 статистически значимо увеличивает риск развития ИМН (ген PLA2R1 (rs4664308): аллель A [ОШ = 2,98, 95% ДИ 1,79–4,98; $p < 0,05$], генотип A/A [ОШ = 5,30, 95% ДИ 2,57–10,91; $p < 0,05$]; ген HLA-DQA1 (rs2187668): аллель A [ОШ = 3,97, 95% ДИ 2,08–7,58 $p < 0,05$] и генотип A/A [ОШ = 10,14, 95% ДИ 2,19–46,90 $p < 0,05$]). При носительстве комбинации аллелей повышенного риска (аллель A гена HLA-DQA1 и генотип A/A гена PLA2R1) риск развития ИМН возрастает почти в 18 раз (ОШ = 17,70, 95% ДИ 4,65–68,00; $p < 0,05$).

2. Подтверждена генетическая детерминированность продукции антител к рецептору фосфолипазы A2 (PLA2R): у больных ИМН с генотипом A/A гена PLA2R1, ассоциированного с высоким риском развития ИМН, антитела к PLA2R обнаруживаются статистически значимо чаще по сравнению с носителями аллеля G (в 76,9% и 23,1% случаев соответственно, $\chi^2=4,34$, $p=0,05$), причем среди носителей аллеля A гена PLA2R1 преобладают высокие титры титры этих антител (титры от 1:10 до 1:80 25,0%; титры от 1:80 и выше 75,0%)

3. Определены особенности клинической картины ИМН, ассоциированные с вариантами генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668): протеинурия > 4 г/сут, соответствующая клиническим критериям среднего и высокого риска прогрессирования МН, значительно чаще выявляется у носителей генотипа A/A гена PLA2R1 (75,7% по сравнению с 47,4% у больных с генотипами A/G и G/G; $\chi^2=4,49$, $p=0,04$), аллеля A гена

HLA-DQA1 (83,3% по сравнению с носителями генотипа G/G; $\chi^2=3,53$, $p=0,06$) или комбинации генотипов высокого риска (92,3% по сравнению с 42,9% у носителей комбинации низкого риска; $\chi^2=7,36$, $p=0,03$).

4. Установлена ассоциация исследуемых вариантов генов PLA2R1 (rs4664308) и HLA-DQA1 (rs2187668) с характером ответа на патогенетическую терапию: для достижения ремиссии нефротического синдрома носителям аллеля риска А гена HLA-DQA1 чаще, чем носителями генотипа G/G, требуется более длительное лечение и проведение нескольких курсов иммуносупрессии (в 75% и 26,3% случаях соответственно; $\chi^2=7,04$, $p=0,01$).

5. Скорость прогрессирования дисфункции почек в группах больных ИМН, выделенных в зависимости от генотипов исследуемых вариантов генов и их комбинаций, статистически значимо не различается. Ведущее значение в прогрессировании ИМН имеют такие традиционные факторы риска ХБП, как более старший возраст начала заболевания (многофакторный анализ методом Forward LR ($2 \log LG = 31,94$, $\chi^2=16,30$, $p=0,003$): Exp(B) - 10,53, 95% ДИ 1,10–100,00, $p=0,04$), персистирование протеинурии (Exp(B) - 79,35, 95% ДИ 1,76–3690,59, $p=0,03$) и нарушение функции почек на момент постановки диагноза (Exp(B) - 11,51, 95% ДИ 1,02–129,23, $p=0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с ИМН, с высокой клинической и серологической активностью заболевания, не отвечающим на стандартные схемы иммуносупрессивной терапии, может быть рекомендовано исследование полиморфных маркеров rs4664308 гена PLA2R1 и rs2187668 гена HLA-DQA1 для выявления аллелей и генотипов риска, носительство которых может predispose к такому течению ИМН и служить обоснованием более длительной и агрессивной иммуносупрессии.

2. Всем пациентам с ИМН, независимо от генетической предрасположенности к ее развитию, для снижения темпов падения СКФ и отдаления развития терминальной почечной недостаточности рекомендуется максимальная коррекция традиционных факторов риска прогрессирования ХБП.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

АТ - антитело

ГН – гломерулонефрит

ДАД – диастолическое артериальное давление

ИМН – идиопатическая мембранозная нефропатия

ИСТ – иммуносупрессивная терапия

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

МН – мембранозная нефропатия

МС – мочевого синдром

НС - нефротический синдром

ПЗ - преднизолон

ПУ – протеинурия

ПЦР – полиморфная цепная реакция

ПЦР-РВ - полиморфная цепная реакция в реальном времени

САД – систолическое артериальное давление

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СПУ – суточная протеинурия

тХПН – терминальная хроническая почечная недостаточность

ХБП – хроническая болезнь почек

ХПН – хроническая почечная недостаточность

ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы

ЦсА – циклоспорин А

ЦФА – циклофосфамид

CTLD (C-type Lectin Domains) – лектиноподобный домен С-типа

CysR (Cystein-rich) – богатый цистеином N-концевой домен

FNII (Fibronectin II Domain) – домен фибронектина II типа

GWAS (Genome-wide association studies) – полигеномный поиск ассоциаций

HLA (Human Leukocyte Antigens) – главный комплекс гистосовместимости человека

NEP (Neutral Endopeptidase) – нейтральная пептидаза

IC (C-terminal tail) – короткий внутриклеточный С-концевой хвост

MHC (Major Histocompatibility Complex) – главный комплекс гистосовместимости

PLA2R (Phospholipase A2 Receptor) – рецептор к фосфолипазе A2

CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) -
Сотрудничество по эпидемиологии хронической болезни почек

SNP (Single Nucleotide Polymorphism) - одиночный нуклеотидный полиморфизм

THSD7A (Thrombospondin type I domain-containing 7A) - тромбоспондин-1, содержащий домен 7

TM (transmembrane domain) – трансмембранный домен

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ancian P. [и др.] The human 180-kDa receptor for secretory phospholipases A2. Molecular cloning, identification of a secreted soluble form, expression, and chromosomal localization [Журнал] // J Biol Chem. - Apr 1995 г.. - 14;270(15). - стр. 8963-70.
2. Austin H.A. III [и др.] Membranous nephropathy. [Журнал] // Ann Intern Med. - 1992 г.. - 116. - стр. 672-82.
3. Ballarin J. [и др.] Treatment of idiopathic membranous nephropathy with the combination of steroids, tacrolimus and mycophenolate mofetil: results of a pilot study. [Журнал] // Nephrol Dial Transplant. . - Nov 2007 г.. - 22(11). - стр. 3196-201.
4. Bantis C. [и др.] Tumor necrosis factor-alpha gene G-308A polymorphism is a risk factor for the development of membranous glomerulonephritis. [Журнал] // Am J Nephrol. - 2006 г.. - 26(1). - стр. 12-5.
5. Bech A. P. [и др.] Association of anti-PLA₂R antibodies with outcomes after immunosuppressive therapy in idiopathic membranous nephropathy. [Журнал] // Clin J Am Soc Nephrol. . - Aug 2014 г.. - 7;9(8). - стр. 1386-92.
6. Beck L.H. Jr. [и др.] M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy [Статья] // N Engl J Med. - Jul 2009 г.. - 2;361(1). - стр. 11-21.
7. Beck L.H. Jr. и Salant DJ Membranous nephropathy: from models to man [Журнал] // J Clin Invest. - Jun 2014 г.. - 124(6). - стр. 2307-14.
8. Bell E.T. Renal Diseases [Книга]. - Philadelphia : PA: Lea&Febiger, 1946. - стр. 141-253.
9. Bockenhauer D. [и др.] Familial membranous nephropathy: an X-linked genetic susceptibility? [Журнал] // Nephron Clin Pract. - 2008 г.. - 108(1). - стр. 10-5.
10. Braden G.L. [и др.] Changing incidence of glomerular diseases in adults. [Журнал] // Am J Kidney Dis. - May 2000 г.. - 35(5). - стр. 878-83.

11. Bruschi M. [и др.] Direct characterization of target podocyte antigens and auto-antibodies in human membranous glomerulonephritis: Alfa-enolase and borderline antigens. [Журнал] // J Proteomics. . - Sep 2011 г.. - 6;74(10). - стр. 2008-17.
12. Bullich G. [и др.] HLA-DQA1 and PLA2R1 polymorphisms and risk of idiopathic membranous nephropathy [Статья] // Clin J Am Soc Nephrol. - Feb 2014 г.. - 9(2). - стр. 335-43.
13. Cahen R. [и др.] Aetiology of membranous glomerulonephritis: a prospective study of 82 adult patients. [Журнал] // Nephrol Dial Transplant. . - 1989 г.. - 4(3). - стр. 172-80.
14. Cavazzini F. [и др.] Identification and characterization of a new autoimmune protein in membranous nephropathy by immunoscreening of a renal cDNA library. [Журнал] // PLoS One. . - 2012 г.. - 7(11). - стр. 48845.
15. Chen C.H. [и др.] Impact of plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms on primary membranous nephropathy [Журнал] // Nephrol Dial Transplant. - Oct 2008 г.. - 23(10). - стр. 3166-73.
16. Coenen M.J. [и др.] Phospholipase A2 Receptor (PLA2R1) Sequence Variants in Idiopathic Membranous Nephropathy. [Журнал] // J Am SocNephrol. - 2013 г.. - 24(4). - стр. 677-83.
17. Coupes B., Brenchley P.E. и Short C.D. Clinical aspects of C3dg and C5b-9 in human membranous nephropathy. [Журнал] // Nephrol Dial Transplant. - 1992 г.. - 7(1). - стр. 32–34.
18. Couser W.G. и Salant D.J. In situ immune complex formation and glomerular injury [Журнал] // Kidney Int. - 1980 г.. - 17. - стр. 1-13.
19. Couser W.G. [и др.] Experimental glomerulonephritis in the isolated perfused rat kidney [Журнал] // J Clin Invest. - 1978 г.. - 62. - стр. 1275-1287.
20. Covic A. [и др.] Epidemiology of renal disease in Romania: a 10 year review of two regional renal biopsy databases [Статья] // Nephrol Dial Transplant. - Feb 2006 г.. - 21(2). - стр. 419-24.

21. Cui Z. [и др.] MHC Class II Risk Alleles and Amino Acid Residues in Idiopathic Membranous Nephropathy. [Журнал] // J Am Soc Nephrol. - May 2017 г.. - 28(5). - стр. 1651-1664.
22. Day A.J. The C-type carbohydrate recognition domain (CRD) superfamily. [Журнал] // Biochem Soc Trans. - Feb 1994 г.. - 22(1). - стр. 83-8.
23. Debiec H. [и др.] Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies. [Журнал] // N Engl J Med. - Jun 2002 г.. - 27;346(26). - стр. 2053-60.
24. Debiec H. [и др.] Role of truncating mutations in MME gene in fetomaternal alloimmunisation and antenatal glomerulopathies [Журнал] // Lancet. - Oct 2004 г.. - 2-8;364(9441):. - стр. 1252-9.
25. Debiec H. и Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy. [Журнал] // N Engl J Med. . - Feb 2011 г.. - 17;364(7). - стр. 689-90.
26. Elshihabi I., Kaye C.I. и Brzowski A. Membranous nephropathy in two human leukocyte antigen-identical brothers. [Журнал] // J Pediatr. . - Dec 1993 г.. - 123(6). - стр. 940-2.
27. Fresquet M. [и др.] Identification of a major epitope recognized by PLA2R autoantibodies in primary membranous nephropathy [Журнал] // J Am Soc Nephrol. - Feb 2015 г.. - 26(2). - стр. 302-13.
28. Ghiggeri G.M. [и др.] Cyclosporine in patients with steroid-resistant nephrotic syndrome: an open-label, nonrandomized, retrospective study [Журнал] // Clin Ther. - Sep 2004 г.. - стр. 26(9):1411-8.
29. Glassock R.J. Diagnosis and natural course of membranous nephropathy. [Журнал] // Semin Nephrol. . - Jul 2003 г.. - 23(4). - стр. 324-32.
30. Glassock R.J. The pathogenesis of idiopathic membranous nephropathy: a 50-year odyssey [Журнал] // Am J Kidney Dis. - Jul 2010 г.. - стр. 56(1):157-67.
31. Gluck M.C. [и др.] Membranous glomerulonephritis. Evolution of clinical and pathologic features. [Журнал] // Ann Intern Med. . - Jan 1973 г.. - 78(1). - стр. 1-12.

32. Hanks J.B. [и др.] The changing pattern of adult primary glomerular disease. [Журнал] // Nephrol Dial Transplant. . - Oct 2009 г.. - 24(10). - стр. 3050-4.
33. Heymann W. [и др.] Production of nephrotic syndrome in rats by Freund's adjuvant and rat kidney suspensions [Журнал] // Proc Soc Exp Biol Med. - 1959 г.. - 100. - стр. 660-664.
34. Hiki H. [и др.] Strong association of HLA-DR2 and MT1 with idiopathic membranous nephropathy in Japan. [Журнал] // Kidney Int. - Jun 1984 г.. - 25(6). - стр. 953-7.
35. Hofstra J.M. и Wetzels J.F. Alkylating agents in membranous nephropathy: efficacy proven beyond doubt. [Журнал] // Nephrol Dial Transplant . - 2010 г.. - 25. - стр. 1760-6.
36. Hofstra J.M. [и др.] Anti-phospholipase A₂ receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy [Статья] // Clin J Am Soc Nephrol. - Jun 2011 г.. - 6(6). - стр. 1286-91.
37. Honkanen E. Survival in idiopathic membranous glomerulonephritis. [Журнал] // Clin Nephrol. . - Mar 1986 г.. - 25(3). - стр. 122-8.
38. Hoxha E. [и др.] An immunofluorescence test for phospholipase-A₂-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. [Журнал] // Nephrol Dial Transplant. . - Aug 2011 г.. - 26(8). - стр. 2526-32.
39. Hoxha E. [и др.] Enhanced expression of the M-type phospholipase A₂ receptor in glomeruli correlates with serum receptor antibodies in primary membranous nephropathy. [Журнал] // Kidney Int. . - Oct 2012 г.. - 82(7). - стр. 797-804.
40. Hoxha E. [и др.] Phospholipase A₂ receptor autoantibodies and clinical outcome in patients with primary membranous nephropathy. [Журнал] // J Am Soc Nephrol. . - Jun 2014 г.. - 25(6). - стр. 1357-66.
41. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. [Журнал] // Nature . - 2004 г.. - 431. - стр. 931–945.

42. Ishizaki J. [и др.] Molecular cloning of pancreatic group I phospholipase A2 receptor. [Журнал] // J Biol Chem. - Feb 1994 г.. - 25;269(8). - стр. 5897-904.
43. Jha V. [и др.] A randomized, controlled trial of steroids and cyclophosphamide in adults with nephrotic syndrome caused by idiopathic membranous nephropathy. [Журнал] // J Am Soc Nephrol. . - Jun 2007 г.. - 18(6). - стр. 1899-904.
44. Jones D. Nephrotic glomerulonephritis [Журнал] // Am J Pathol. - 1957 г.. - стр. 33: 313-329.
45. Kaga H. [и др.] Analysis of PLA2R1 and HLA-DQA1 sequence variants in Japanese patients with idiopathic and secondary membranous nephropathy [Статья] // Clin Exp Nephrol. - Apr 2018 г.. - 22(2). - стр. 275-282.
46. Kanigicherla D. [и др.] Anti-PLA2R antibodies measured by ELISA predict long-term outcome in a prevalent population of patients with idiopathic membranous nephropathy. [Журнал] // Kidney Int. - May 2013 г.. - 83(5). - стр. 940-8.
47. Kao L. [и др.] Identification of the immunodominant epitope region in phospholipase A2 receptor-mediating autoantibody binding in idiopathic membranous nephropathy [Журнал] // J Am Soc Nephrol. - Feb 2015 г.. - 26(2). - стр. 291-301.
48. Kerjaschki D. Pathogenetic concepts of membranous glomerulopathy (MGN) [Журнал] // J Nephrol. . - Nov-Dec 2000 г.. - стр. 13.
49. Kerjaschki D. и Farquhar MG Immunocytochemical localization of the Heymann nephritis antigen (GP330) in glomerular epithelial cells of normal Lewis rats [Журнал] // J Exp Med. - 1983 г.. - 157. - стр. 667-686.
50. Kerjaschki D., Miettinen A. и Farquhar M.G. Initial events in the formation of immune deposits in passive Heymann nephritis. gp330-anti-gp330 immune complexes form in epithelial coated pits and rapidly become attached to the glomerular basement membran [Журнал] // J Exp Med. - 1987 г.. - стр. 166; 109-128.
51. Kim S., Chin H.J., Na K.Y., Kim S., Oh J., Chung W., Noh J.W., Lee Y.K., Cho J.T., Lee E.K., Chae D.W. и members Progressive Renal Disease and Medical

Informatics and Genomics Research (PREMIER) Single nucleotide polymorphisms in the phospholipase A2 receptor gene are associated with genetic susceptibility to idiopathic membranous nephropathy [Журнал] // Nephron Clin Pract. - 2011 г.. - стр. 117(3):c253-8.

52. Klouda P.T. [и др.] Strong association between idiopathic membranous nephropathy and HLA-DRW3. [Журнал] // Lancet. - 1979 г.. - 13;2(8146). - стр. 770-1.

53. Kon S.P. [и др.] Urinary C5b-9 excretion and clinical course in idiopathic human membranous nephropathy. [Журнал] // Kidney Int. - Dec 1995 г.. - 48(6). - стр. 1953-8.

54. Korbet S.M. [и др.] The racial prevalence of glomerular lesions in nephrotic adults. [Журнал] // Am J Kidney Dis. - May 1996 г.. - 27(5). - стр. 647-51.

55. Lambeau G. и Lazdunski M. Receptors for a growing family of secreted phospholipases A2 [Журнал] // Trends Pharmacol Sci. - Apr 1999 г.. - 20(4). - стр. 162-70.

56. Lambeau G. [и др.] A family of receptors for secretory phospholipases A2 [Журнал] // C R Seances Soc Biol Fil. - 1996 г.. - 190(4). - стр. 425-35.

57. Larsen C.P. [и др.] Apolipoprotein L1 risk variants associate with systemic lupus erythematosus-associated collapsing glomerulopathy. [Журнал] // J Am Soc Nephrol. . - Apr 2013 г.. - 24(5). - стр. 722-5.

58. Larsen C.P. [и др.] Determination of primary versus secondary membranous glomerulopathy utilizing phospholipase A2 receptor staining in renal biopsies. [Журнал] // Mod Pathol. . - May 2013 г.. - 26(5). - стр. 709-15.

59. Laurens W. [и др.] Direct podocyte damage in the single nephron leads to albuminuria in vivo [Журнал] // Kidney Int. - Apr 1995 г.. - 47(4). - стр. 1078-86.

60. Levey A.S. [и др.] Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). [Журнал] // Kidney Int. - Jun 2005 г.. - 67(6). - стр. 2089-100.

61. Liu Y.H. [и др.] Association of phospholipase A2 receptor 1 polymorphisms with idiopathic membranous nephropathy in Chinese patients in Taiwan [Журнал] // J Biomed Sci. - Oct 2010 г.. - стр. 11;17:81.
62. Lv J. [и др.] Interaction between PLA2R1 and HLA-DQA1 variants associates with anti-PLA2R antibodies and membranous nephropathy. [Журнал] // J Am Soc Nephrol. - Jul 2013 г.. - 24(8). - стр. 1323-9.
63. Marx B.E. и Marx M. Prediction in idiopathic membranous nephropathy. [Журнал] // Kidney Int. - Aug 1999 г.. - 56(2). - стр. 666-73.
64. Mayer R.J. и Marshall L.A. New insights on mammalian phospholipase A2(s); comparison of arachidonoyl-selective and -nonselective enzymes. [Журнал] // FASEB J. . - Feb 1993 г.. - 1;7(2). - стр. 339-48.
65. McCluskey R.T. [и др.] An immunofluorescent study of pathogenic mechanisms in glomerular diseases. [Журнал] // N Engl J Med. . - Mar 1966 г.. - 31;274(13). - стр. 695-701.
66. Mellors R.C., Ortega L.G. и Holman H.R. Role of gammaglobulins in pathogenesis of renal lesions in systemic lupus erythematosus and chronic membranous glomerulonephritis, with an observation of the lupus erythematosus cell reaction [Журнал] // J Exp Med. - 1957 г.. - 1065. - стр. 191-202.
67. Moranne O. [и др.] Primary glomerulonephritis: an update on renal survival and determinants of progression. [Журнал] // QJM . - 2008 г.. - 101. - стр. 215-24.
68. Mundel P. и Kriz W. Structure and function of podocytes: an update. [Журнал] // Anat Embryol (Berl). - Nov 1995 г.. - 192(5). - стр. 385-97.
69. Murtas C., Ravani P. и Ghiggeri G. M New insights into membranous glomerulonephritis: from bench to bedside. [Журнал] // Nephrol Dial Transplant. . - Aug 2011 г.. - 26(8). - стр. 2428-30.
70. Nayer A. и Asif A. Idiopathic membranous nephropathy and anti-phospholipase A2 receptor antibodies [Журнал] // J Nephropathology. - 2013 г.. - стр. 2(4):214-216.

71. Nishimukai H. [и др.] actor B subtypes in Japanese patients with IgA nephropathy and with idiopathic membranous nephropathy [Журнал] // Exp Clin Immunogenet. - 1988 г.. - 5(4). - стр. 196-202.
72. Official Journal of the International Society of Nephrology KDIGO Clinical Practice Guideline [Конференция]. - 2012. - Т. volume 2, issue 2 .
73. Ogahara S. [и др.] Analysis of HLA class II genes in Japanese patients with idiopathic membranous glomerulonephritis. [Журнал] // Kidney Int. - Jan 1992 г.. - 41(1). - стр. 175-82.
74. Papiha S.S. [и др.] HLA-A, B, DR and Bf allotypes in patients with idiopathic membranous nephropathy (IMN). [Журнал] // Kidney Int. - Jan 1987 г.. - 31(1). - стр. 130-4.
75. Pei Y., Cattran D. и Greenwood C. Predicting chronic renal insufficiency in idiopathic membranous glomerulonephritis. [Журнал] // Kidney Int. . - Oct 1992 г.. - 42(4). - стр. 960-6.
76. Polanco N. [и др.] Spontaneous remission of nephrotic syndrome in idiopathic membranous nephropathy [Журнал] // J Am Soc Nephrol. - Apr 2010 г.. - 21(4). - стр. 697-704.
77. Ponticelli C. [и др.] Controlled trial of methylprednisolone and chlorambucil in idiopathic membranous nephropathy [Журнал] // N Engl J Med. - Apr 1984 г.. - 12;310(15). - стр. 946-50.
78. Ponticelli C. Membranous nephropathy. [Журнал] // J Nephrol. - May-Jun 2007 г.. - 20(3). - стр. 268-87.
79. Ponticelli C. и Glassock R.J. Glomerular diseases: membranous nephropathy - a modern view [Журнал] // Clin J Am Soc Nephrol. - Mar 2014 г.. - стр. 9(3):609-16.
80. Prunotto M. [и др.] Autoimmunity in membranous nephropathy targets aldose reductase and SOD2. [Журнал] // J Am Soc Nephrol. . - Mar 2010 г.. - 21(3). - стр. 507-19.

81. Qin W. [и др.] Anti-Phospholipase A2 Receptor Antibody in Membranous Nephropathy [Журнал] // J Am Soc Nephrol. - Jun 2011 г.. - 22(6). - стр. 1137–1143.
82. Quaglia M. и Stratta P. Idiopathic membranous nephropathy: management strategies [Журнал] // Drugs. - Jul 2009 г.. - 9;69(10). - стр. 1303-17.
83. Ramachandran R. [и др.] PLA2R antibodies, glomerular PLA2R deposits and variations in PLA2R1 and HLA-DQA1 genes in primary membranous nephropathy in South Asians [Журнал] // Nephrol Dial Transplant. - Sep 2016 г.. - 31(9). - стр. 1486-93.
84. Rathi M. [и др.] Changing histologic spectrum of adult nephrotic syndrome over five decades in north India: A single center experience. [Журнал] // Indian J Nephrol. . - Mar 2014 г.. - 24(2). - стр. 86-91.
85. Reichert L.J., Koene R.A. и Wetzels J.F. Prognostic factors in idiopathic membranous nephropathy. [Журнал] // Am J Kidney Dis. - Jan 1998 г.. - 31(1). - стр. 1-11.
86. Ritchie M.D., Hahn L.W. и Moore J.H. Power of multifactor dimensionality reduction for detecting gene-gene interactions in the presence of genotyping error, missing data, phenocopy, and genetic heterogeneity. [Журнал] // Genet Epidemiol. . - Feb 2003 г.. - 24(2). - стр. 150-7.
87. Rivera F., López-Gómez J.M. и Pérez-García R. Clinicopathologic correlations of renal pathology in Spain. [Журнал] // Kidney Int. - Sep 2004 г.. - 66(3). - стр. 898-904.
88. Robinson J. [и др.] IMGT/HLA and IMGT/MHC: sequence databases for the study of the major histocompatibility complex [Журнал] // Nucleic Acids Res. - Jan 2003 г.. - 1;31(1). - стр. 311–314.
89. Ronco P. и Debiec H. Podocyte antigens and glomerular disease [Журнал] // Nephron Exp Nephrol. - 2007 г.. - 107(2). - стр. 41-6.
90. Ronco P. и Debiec H. Antigen identification in membranous nephropathy moves toward targeted monitoring and new therapy. [Журнал] // J Am Soc Nephrol. . - Apr 2010 г.. - 21(4). - стр. 564-9.

91. Ronco P. и Debiec H. Advances in membranous nephropathy: success stories of a long journey. [Журнал] // Clin Exp Pharmacol Physiol.. - Jul 2011 г.. - 38(7). - стр. 460-6.
92. Ronco P. и Debiec H. Molecular pathogenesis of membranous nephropathy. [Статья] // Annu Rev Pathol Mech Dis.. - Jan 2020 г.. - 15. - стр. 287-313.
93. Ronco P. и Debiec H. Pathogenesis of membranous nephropathy: Recent advances and future challenges. [Журнал] // Nat Rev Nephrol. - 2012 г.. - 8. - стр. 203–213.
94. Ruggenenti P. [и др.] Anti-Phospholipase A2 Receptor Antibody Titer Predicts Post-Rituximab Outcome of Membranous Nephropathy. [Журнал] // J Am Soc Nephrol. . - Oct 2015 г.. - 26(10). - стр. 2545-58.
95. Rychlík I. [и др.] The Czech registry of renal biopsies. Occurrence of renal diseases in the years 1994-2000. [Статья] // Nephrol Dial Transplant. - Dec 2004 г.. - 19(12). - стр. 3040-9.
96. Saeed M. [et al.] PLA2R-associated membranous glomerulopathy is modulated by common variants in PLA2R1 and HLA-DQA1 genes [Journal] // Genes Immun. - Dec 2014. - 15(8). - pp. 556-61.
97. Salant D.J. Genetic variants in membranous nephropathy: perhaps a perfect storm rather than a straightforward conformeropathy? [Журнал] // J Am Soc Nephrol. - Mar 2013 г.. - стр. 24(4):525-8.
98. Sato K. [и др.] Idiopathic membranous nephropathy in two brothers. [Журнал] // Nephron. . - 1987 г.. - 46(2. - стр. 174-8.
99. Schena F.P. Survey of the Italian Registry of Renal Biopsies. Frequency of the renal diseases for 7 consecutive years. The Italian Group of Renal Immunopathology. [Статья] // Nephrol Dial Transplant. - Mar 1997 г.. - стр. 12(3):418-26.
100. Schieppati A. [и др.] Prognosis of untreated patients with idiopathic membranous nephropathy. [Журнал] // N Engl J Med. - Jul 1993 г.. - 8;329(2). - стр. 85-9.

101. Segelmark M. и Hellmark T. Autoimmune kidney diseases [Журнал] // *Autoimmun Rev.* - Mar 2010 г.. - 9(5). - стр. 366-71.
102. Segelmark M. Genes that link nephritis to autoantibodies and innate immunity. [Журнал] // *N Engl J Med.* - 2011 г.. - 364. - стр. 679–680.
103. Sekula P. [и др.] Genetic risk variants for membranous nephropathy: extension of and association with other chronic kidney disease aetiologies [Журнал] // *Nephrol Dial Transplant.* - Feb 2017 г.. - 1;32(2). - стр. 325-332.
104. Shiiki H. [и др.] Prognosis and risk factors for idiopathic membranous nephropathy with nephrotic syndrome in Japan. [Журнал] // *Kidney Int.* - Apr 2004 г.. - 65(4). - стр. 1400-7.
105. Short C.D. [и др.] Familial membranous nephropathy. [Журнал] // *Br Med J (Clin Res Ed).* - Dec 1984 г.. - 1;289(6457). - стр. 1500.
106. Sommer S. The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation [Журнал] // *Front Zool.* - Oct 2005 г.. - стр. 2: 16.
107. Stanescu H.C. [и др.] Risk HLA-DQA1 and PLA2R1 Alleles in Idiopathic Membranous Nephropathy [Журнал] // *N Engl J Med.* - 17 Feb 2011 г.. - 364. - стр. 616-626.
108. Svobodova B. [и др.] Kidney biopsy is a sensitive tool for retrospective diagnosis of PLA2R-related membranous nephropathy. [Журнал] // *Nephrol Dial Transplant.* . - Jul 2013 г.. - 28(7). - стр. 1839-44.
109. Taylor M.E. [и др.] Primary structure of the mannose receptor contains multiple motifs resembling carbohydrate-recognition domains. [Журнал] // *J Biol Chem.* - Jul 1990 г.. - 25;265(21). - стр. 12156-62.
110. Thibaudin D. [и др.] TNFA2 and d2 alleles of the tumor necrosis factor alpha gene polymorphism are associated with onset/occurrence of idiopathic membranous nephropathy [Журнал] // *Kidney Int.* - Mar 2007 г.. - 71(5). - стр. 431-7.
111. Thiri M. [и др.] High-density Association Mapping and Interaction Analysis of PLA2R1 and HLA Regions with Idiopathic Membranous Nephropathy in Japanese [Журнал] // *Sci. Rep.* - 2016 г.. - 6. - стр. 38189.

112. Tomas N.M. [и др.] Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy. [Журнал] // N Engl J Med. - Dec 2014 г.. - 11;371(24). - стр. 2277-2287.
113. Troyanov S. [и др.] Renal pathology in idiopathic membranous nephropathy: a new perspective. [Журнал] // Kidney Int. - May 2006 г.. - 69(9). - стр. 1641-8.
114. Van Damme B.J. [и др.] Experimental glomerulonephritis in the rat induced by antibodies directed against tubular antigens. V. Fixed glomerular antigens in the pathogenesis of heterologous immune complex [Журнал] // Lab Invest. - 1978 г.. - 38. - стр. 502-510.
115. van de Logt A.E., Hofstra J.M. и Wetzels J.F. Serum anti-PLA2R antibodies can be initially absent in idiopathic membranous nephropathy: seroconversion after prolonged follow-up. [Журнал] // Kidney Int. . - Jun 2015 г.. - 87(6). - стр. 1263-4.
116. van den Brand J.A., Wetzels J.F. и Hofstra J.M. Prognostic value of risk score and urinary markers in idiopathic membranous nephropathy. [Журнал] // Clin J Am Soc Nephrol. . - Aug 2012 г.. - 7(8). - стр. 1242-8.
117. Vangelista A., Tazzari R. и Bonomini V. Idiopathic membranous nephropathy in 2 twin brothers. [Журнал] // Nephron. . - 1988 г.. - 50(1). - стр. 79-80.
118. Vasmant D. [и др.] Familial idiopathic membranous glomerulonephritis. [Журнал] // Int J Pediatr Nephrol. . - Dec 1984 г.. - 5(4). - стр. 193-6.
119. Vaughan R.W., Demaine A.G. и Welsh K.I. Tissue Antigens. [Журнал]. - Nov 1989 г.. - 34(5). - стр. 261-9.
120. Vaughan R.W. [и др.] An analysis of HLA class II gene polymorphism in British and Greek idiopathic membranous nephropathy patients. [Журнал] // Eur J Immunogenet. - Apr 1995 г.. - 22(2). - стр. 179-86.
121. Vendemia F. [и др.] Epidemiology of primary glomerulonephritis in the elderly: report from the Italian. [Статья] // J Nephrol. - Sep-Oct 2001 г.. - 14(5). - стр. 340-52.
122. Weis W.I., Taylor ME и Drickamer K The C-type lectin superfamily in the immune system. [Журнал] // Immunol Rev. - Jun 1998 г.. - 163. - стр. 19-34.

123. Zeng C.H. [и др.] Etiology and clinical characteristics of membranous nephropathy in Chinese patients. [Журнал] // Am J Kidney Dis. . - Oct 2008 г.. - 52(4). - стр. 691-8.
124. Zhou F.D. [и др.] The renal histopathological spectrum of patients with nephrotic syndrome: an analysis of 1523 patients in a single Chinese centre. [Журнал] // Nephrol Dial Transplant.. - Dec 2011 г.. - 26(12). - стр. 3993-7.
125. Абдуллаев С.М. Клиническое значение полиморфизма генов цитокинов и гена гемохроматоза у больных хроническим гепатитом С. [Отчет] : автореф. дисс. канд. мед. наук.. - Москва : [б.н.], 2008.
126. Артемова М.Г. Генетические полиморфизмы, ассоциированные с развитием криоглобулинемии у больных хроническим гепатитом С. [Отчет] : Автореф. дисс. канд. мед. наук.. - Москва : [б.н.], 2017.
127. Бобкова И.Н. [и др.] Эволюция в понимании патогенеза идиопатической мембранозной нефропатии: от экспериментальных моделей к клинике [Журнал] // Альманах клинической медицины. - 2017 г.. - 45(7). - стр. 553-564.
128. Боброва Л.А. Поражение почек при наследственных и приобретенных тромбофилиях. [Отчет] : Автореф. дисс. канд. мед. наук.. - Москва : [б.н.], 2010.
129. Голубева А.А. Изучение полиморфных вариантов генов-кандидатов [Отчет] : Автореф. дисс. канд. мед. наук.. - Москва : [б.н.], 2008.
130. Горбунова В.Н. Медицинская генетика [Книга]. - СПб : Фолиант, 2015. - стр. 357.
131. Ибрагимова И.И., Газизова Р.Г. и Аскарова А.Н. Ассоциация полиморфизма G2350A гена ангиотензинпревращающего фермента с гипертонической болезнью. [Журнал] // Медицинская генетика.. - 2005 г.. - 4(5). - стр. 193.
132. Камышова Е.С. [и др.] Генетические детерминанты развития и течения мембранозной нефропатии. Терапевтический архив [Журнал] // Терапевтический архив. - 2018 г.. - 6. - стр. 105-111.

133. Камышова Е.С. Клиническое значение полиморфных маркеров гена ангиотензинпревращающего фермента, гена синтетазы альдостерона и гена эндотелиальной синтетазы оксида азота при хроническом гломерулонефрите. [Отчет] : Автореф. дисс. канд. мед. наук.. - Москва : [б.н.], 2004.
134. Кураева Т.Л. и Емельянов А.О. Клиническая и генетическая гетерогенность неонатального сахарного диабета. [Журнал] // Сахарный диабет. - 2006 г.. - 3. - стр. 10-15.
135. Ляликов С.А. и Тихон Н.М. Клиническая иммунология и аллергология : учеб. пособие [Книга]. - Минск : Высшэйшая школа, 2015. - стр. 366.
136. Таратина О.В. Клиническое значение полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы, оксидативного стресса и эндотелиальной дисфункции у больных хроническим гепатитом С. [Отчет] : Автореф. дисс. канд. мед. наук.. - Москва : [б.н.], 2014.
137. Федорова Ю.Ю. Анализ генов предрасположенности к развитию бронхиальной астмы в республике Башкортостан [Отчет] : Автореф. дисс. канд. биолог, наук.. - Уфа : [б.н.], 2009.
138. Хаитов Р.М. и Алексеев Л П Система генов HLA и регуляция иммунного ответа. Аллергия, астма и клиническая иммунология. [Книга]. - 2000. - стр. 7-16.
139. Ярилин А.А. Иммунология. Руководство [Книга]. - [б.м.] : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - стр. 748.