

EUROPEAN JOURNAL OF
MOLECULAR MEDICINE



European Journal of Molecular medicine

Volume 4, No.3, June 2024

Internet address: <http://ejournals.id/index.php/EJMM/issue/archive>

E-mail: info@ejournals.id

Published by ejournals PVT LTD

DOI prefix: 10.52325

Issued Bimonthly

Potsdamer Straße 170, 10784 Berlin, Germany

Requirements for the authors.

The manuscript authors must provide reliable results of the work done, as well as an objective judgment on the significance of the study. The data underlying the work should be presented accurately, without errors. The work should contain enough details and bibliographic references for possible reproduction. False or knowingly erroneous statements are perceived as unethical behavior and unacceptable.

Authors should make sure that the original work is submitted and, if other authors' works or claims are used, provide appropriate bibliographic references or citations. Plagiarism can exist in many forms - from representing someone else's work as copyright to copying or paraphrasing significant parts of another's work without attribution, as well as claiming one's rights to the results of another's research. Plagiarism in all forms constitutes unethical acts and is unacceptable. Responsibility for plagiarism is entirely on the shoulders of the authors.

Significant errors in published works. If the author detects significant errors or inaccuracies in the publication, the author must inform the editor of the journal or the publisher about this and interact with them in order to remove the publication as soon as possible or correct errors. If the editor or publisher has received information from a third party that the publication contains significant errors, the author must withdraw the work or correct the errors as soon as possible.

OPEN ACCESS

Copyright © 2024 by Thematics Journals of Applied Sciences

CHIEF EDITOR

Serikuly Zhandos PhD,

Associate Professor, RWTH Aachen University, Aachen, Germany

EDITORIAL BOARD

Bob Anderson

ImmusanT, *USA*

Marco Bruno

Erasmus Medical Center,
The Netherlands

Antoni Castells

Hospital Clinic
Barcelona, Spain

Giacomo Caio

University of Ferrara, *Italy*

Michael Farthing

St George's Hospital Medical
School, *UK*

Carmelo Scarpignato

University of Parma,
Italy

Geriatric Medicine

Ian Cameron

The University of Sydney,
Australia

Sutthichai Jitapunkul

Chulalongkorn University,
Thailand

Juulia Jylhävä

Karolinska Institute, *Sweden*

Kenneth Rockwood

Dalhousie University,
Canada

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИКЛОФОСФАМИДА В ЛЕЧЕНИИ
СТЕРОИДРЕЗИСТЕНТНОГО НЕФРОТИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ.**

Халилов М.Х.,
Национальный детский медицинский центр,
Хамзаев К.А.,
Ташкентский педиатрический медицинский институт
Шоикромов Ш.Ш.,
Ташкентский педиатрический медицинский институт
Ахматалиева М.
Ташкентский педиатрический медицинский институт

Аннотация: Исследовали эффективность пульсо-терапии метилпреднизолоном и циклофосфамидом у детей с стероидрезистентным нефротическим синдромом (СРНС). Этим методом лечили 34 ребенка с СРНС. Среди больных детей с первичным нефротическим синдромом отмечена более высокая частота развития резистентной стероидам нефротического синдрома (27,8%). Применение пульстерапии с метилпреднизолоном и циклофосфамидом имеет положительный эффект у 47 % больных с резистентной стероидам нефротическом синдромом при морфологических вариантах как болезнь минимальных изменений и мембранозный нефрит. Выявлена малая эффективность пульстерапии метилпреднизолоном и циклофосфамидом при лечении фокально-сегментарного гломерулосклероза у детей.

**EFFECTIVENESS OF CYCLOPHOSPHAMIDE IN TREATMENT OF
STEROID-RESISTANT NEPHROTIC SYNDROME IN CHILDREN.**

Khalilov M.Kh.,
National childrens medical center
Khamzaev K.A.,
Tashkent pediatric medical Institute
Shoikromov Sh. Sh.,
Tashkent pediatric medical Institute
Akhmatalieva M.
Tashkent pediatric medical Institute

Abstract: Effectiveness of methylprednisolone and cyclophosphamide pulse therapy in children with steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) were studied. This method was used to treat 34 children with SRNS. Among patients with primary nephrotic syndrome, there was a higher incidence of steroid-resistant nephrotic syndrome (27.8%). The use of methylprednisolone and cyclophosphamide pulse therapy has a positive effect in 47 % of patients with steroid-resistant nephrotic syndrome with morphological types such as minimal change disease and membranous nephritis. Revealed low efficiency of methylprednisolone and cyclophosphamide pulse therapy in the treatment of focal-segmental glomerulosclerosis in children.

Актуальность. Около 85% пациентов с идиопатическим нефротическим синдромом (НС) в ответ на лечение преднизолоном наступает полная ремиссия НС с исчезновением протеинурии и достижением нормального уровня

сывороточного альбумина. У детей с идиопатическим НС ответ на преднизолон является важным прогностическим показателем выживаемости функции почек [1]. У детей с идиопатическим НС, у которых пероральный прием преднизолона не приводит к ремиссии протеинурии, оценивается как стероидрезистентный нефротический синдром (СРНС). При этом в мире единого мнения у нефрологов относительно продолжительности приема преднизолона, прежде чем рассматривать ребенка с стероидрезистентным НС еще не установлено. Мы придерживаемся мнения, что рассматривать наличие стероидной резистентности у детей, когда, несмотря на пероральный прием преднизолоном в дозе 2 мг/кг/сут (или 60 мг/м²) ежедневно в течение 6 недель не достигается полная ремиссия протеинурии. Некоторые авторы вместо 6 недель рекомендуют лечение дебюта идиопатического нефротического синдрома пероральным преднизолоном в течение 8 недель [1,2,3]. В отдельных центрах, включая Great Ormond Street Hospital for Children, Лондон, Великобритания, вводят три внутривенных пульстерапии метилпреднизолона (500 мг/м²), прежде чем отнести детей к группе стероидрезистентных [4]. Приблизительно у 20% детей с идиопатическим нефротическим синдромом морфологические исследования показывает мембранозную нефропатию, IgA нефропатию или пролиферативный гломерулонефрит. Многонациональный регистр RodoNet из 21 стран предоставили важную информацию о ходе и результатах нефробиопсий большой когорты детей с СРНС [5]. Клинические признаки нефротического синдрома у детей с морфологическим диагнозом болезнь минимальных изменений (БМИ), фокально-сегментарного гломерулосклероза (ФСГС) и мезангиопролиферативного гломерулонефрита были схожие. По данным RodoNet при часто рецидивирующем течении нефротического синдрома с БМИ у 171 выполнена повторная нефробиопсия, которая показала трансформация БМИ на ФСГС в 26 из 47 (55%) и мезангиопролиферативного гломерулонефрита на ФСГС в 16 из 33 (48%) случаев [5]. Хотя, целью лечения при СРНС является достижение его полной ремиссии, принято мнение, что у некоторых больных развитие частичной ремиссии (бессимптомная протеинурия) также является удовлетворительным результатом лечения [6,7].

Циклофосфамид, алкилирующий агент, широко используется у детей с стероид чувствительным нефротическим синдромом. Исследования, сравнившие применение перорального циклофосфамида с преднизолоном и монотерапией преднизолоном в лечении СРНС, не показали существенной разницы между двумя режимами лечения [8,9]. Учитывая результаты исследований, пероральный циклофосфамид не рекомендуется для лечения СРНС [10]. Агрессивный протокол лечения СРНС, предложенный Tune и Mendoza [9], включил многократные пульсовые дозы метилпреднизолона внутривенно (30 мг/кг за одно введение, сначала через день, затем с постепенным снижением до еженедельной и ежемесячной дозы), в сочетании с пероральным преднизолоном (2 мг/кг через день) и пероральным циклофосфамидом. Эффективность этого протокола была переменной, частота ремиссии варьировала от 20 до 50%.

Применение циклофосфамида внутривенно считается более эффективным, чем его пероральный прием [11]. Лечение СРНС внутривенным введением циклофосфамида включает в себя его инфузии один раз в месяц в дозе 20мг/кг (кумулятивная доза 180мг/кг) и постепенным снижением дозы принимаемого через день перорального преднизолона, особенно у пациентов с БМИ [12]. Обзор данных исследований показывает, что лечение внутривенным циклофосфамидом приводит к полной и частичной ремиссии у 30-35% детей [13,14]. Циклофосфамид может привести к серьезным побочным эффектам, включая геморрагический

цистит, подавление костного мозга с лейкопенией и к алопеции. Риск азооспермии выше у пубертатных, чем до пубертатных мальчиков и связан с кумулятивным воздействием препарата; риск женского бесплодия ниже, чем у мальчиков [15]. Кумулятивная доза внутривенного циклофосамида, используемого для лечения СРНС, значительно ниже, чем доза, связанная с развитием бесплодия.

За последнее десятилетие выполнено множество крупных исследований, направленных на изучение генетических причин СРНС. В настоящее время известно, что мутации в более, чем 70 генах, кодирующих ключевые белки подоцитов вызывают развитие нефротического синдрома. Несмотря на распознавание множества генетических причин, только у 30% пациентов с СРНС наблюдается определенная мутация в белках подоцита [16].

Стероидрезистентный нефротический синдром не является единым целым. Наиболее доминирующим поражением почек при СРНС является фокально-сегментарный гломерулосклероз. Более глубокое понимание лежащих в их основе механизмов будет руководить дальнейшим лечением. Ранняя генетическая диагностика может помочь избежать неэффективной, но иммуносупрессивной терапии с частыми побочными эффектами.

Цель. Оценить эффективность пульс-терапии метилпреднизолоном и циклофосамидом с дальнейшим приемом преднизолона внутрь при лечении стероидно резистентной формы нефротического синдрома на основании оценки полученных данных при нефробиопсии у детей.

Материалы и методы. Исследование проведено в 2016-2019гг. в отделении детской нефрологии Республиканского специализированного научно-практического центра педиатрии. Все 139 детей, поступившие в клинику дебютом первичного нефротического синдрома получили пероральный преднизолон в дозе 60 мг/м²/поверхность тела/в сутки в каждый день в течении 6 недель с последующим приемом по 40 мг/м²/поверхность тела через день в течение 6 недель. Нефротический синдром диагностировали при наличии генерализованного отёка, альбумина сыворотки <25г/л, холестерина сыворотки > 5,7 ммоль/л и протеинурии более 3+. Критериями ремиссии являлось отсутствие белка в моче или 1+ по методу "dipstick" в сочетании другими клинико-лабораторными симптомами улучшения. Дети с СРНС, но с клинико-лабораторными признаками вторичного гломерулонефрита не были включены в исследование.

При лечении дебюта нефротического синдрома пероральным преднизолоном ежедневно в течении 6-ти недель у 34 детей выявилась стероидная резистентностью. Критерием стероид резистентности служило сохранение клинико-лабораторных признаков нефротического синдрома после 6 недель ежедневного приема преднизолона. Средний возраст детей составил 4,34 лет.

В основную группу включили 17 детей с СРНС, которые получали лечение пульс-терапиями метилпреднизолоном по схеме Mendoza [9] и пульс-терапиями циклофосамида. В основной группе после приема перорального преднизолона 40 мг/м²/поверхность тела через день в течении 6 недель дозу постепенно снижали до 0,25 мг/кг в сутки, в последующем эту дозу преднизолона дети принимали по альтернирующей схеме в течении 36 месяца. В основной группе проводили пульс-терапию циклофосамидом в дозе 750 мг/м²/на поверхность тела ежемесячно в течении одного года (кумулятивная доза внутривенных вливаний 180мг/кг), также пульс-терапию метилпреднизолоном по схеме Mendoza в дозе 30 мг/кг/в сутки в течении 24 месяца.

Результаты лечения детей основной группы сравнивали с результатами лечения контрольной группы. В контрольную группу включили 17 детей с СРНС, которые

после ежедневного приема перорального преднизолона в течении 6-ти недель получали 3 пульс-терапию метилпреднизолоном в дозе 30 мг/кг ежедневно. В контрольной группе пероральный преднизолон после 6 недель приема через день постепенно снижали до 0,25 мг/кг в сутки по альтернирующей схеме и эту дозу дети принимали в течении 12 месяца, для цитостатической терапии была применена терапия пероральным циклофосфамидом из расчета 2-2,5 мг/кг в течение 12 недель (кумулятивная доза 168 мг/кг). В контрольной группе средняя продолжительность лечения пероральным циклофосфамидом составила 3.4 1.6 месяца. При снижении количество лейкоцитов в крови менее $4,0 \times 10^9/\text{л}$ прием циклофосфамида временно прекращали до подъема уровня лейкоцитов в крови.

Всем детям основной и контрольной группы стероидная резистентность была показанием к проведению нефробиопсии. Нефробиопсия производилась детям под общей анестезией, перкутанным способом под контролем ультразвукового сканера. Ультразвуковой контроль осуществляли с использованием линейного датчика 3.5 МГц. Биопсийную иглу 1,6G (производство "Baxter", США) направляли к паренхиме почки с помощью встроенной в ультразвуковом аппарате проводниковой программы для игл. Полученные биоптаты после фиксации и препарирования были осмотрены под световым и иммунофлуоресцентном микроскопом. Микроскопия биоптатов позволяла определить следующие морфологические варианты нефротического синдрома: болезнь минимальных изменений (БМИ), фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС) и МН (мембранозный нефрит).

У детей обеих групп проводили наблюдение с целью контроля белка в моче, артериального давления, анализов крови, функции почек и наличие инфекций, также регистрировали время начала и длительность ремиссии. У всех детей креатинин, альбумин и холестерин сыворотки, скорость клубочковой фильтрации определяли в начале и в конце первого, второго и третьего года наблюдения. В течение 3 летнего наблюдения в основной группе другие иммуносупрессоры (циклоспорин А или микофенолата мофетил) кроме циклофосфамида не применяли. Все дети основной и контрольной группы исследования во втором и третьем году наблюдения принимали ингибитор АПФ - эналаприл в дозе 0,25 мг/кг/сутки из-за его антипротеинурического эффекта.

Результаты и обсуждение.

У детей основной группы во время лечения внутривенным циклофосфамидом свойственные данному препарату побочные эффекты как лейкопения, гипертензия и геморрагический цистит не отмечалось ни у одного пациента. Но отмечали 2 случая (12%) пневмонии после проведенной пульстерапии циклофосфамидом. Почти у всех больных после введения циклофосфамида отмечалась тошнота и рвота, которая была устранена введением метоклопрамида в возрастных дозировках.

В контрольной группе частота побочных эффектов цитостатической терапии было выше по сравнению с основной группой исследования. Лейкопению как осложнение терапии пероральным циклофосфамидом обнаружили у 5 детей (29 %). Инфекционных осложнений наблюдали у 4 (51.4 %), но частота осложнений стероидной терапии были достоверно низко у детей обеих групп исследования (24 %).

Результаты проведенных биопсий у детей основной группы показали следующее: БМИ определили у 6 детей (35,3 %), МН у 6 (35,3 %) и ФСГС - у 5 детей (29,4 %). В контрольной группе БМИ определили у 7 детей (36,3 %), МН у - 5 (34.3 %) и ФСГС - у 5 детей (29,4 %). Результаты нефробиопсий показывают, что частота гистологических вариантов при резистентном к стероидам нефротическом синдроме

не отличаются в основной контрольной группах исследования.

Количество больных основной группы, достигших ремиссии к концу 1 года лечения, составляло 7 (44 %) (4 больных с БМИ, и 3 с МН). У этих детей до конца третьего года наблюдения рецидивов нефротического синдрома не наблюдалось. К концу второго года в основной группе один больной с ФСГС достиг ремиссии, но этому ребенку было рекомендовано прием преднизолона в дозе 0,25 мг/кг через день во втором и третьем году для поддержания ремиссии. К концу третьего года в основной группе 8 больных (47%) находились в состоянии полной ремиссии с поддерживающей дозой преднизолона.

Частота ремиссии среди больных контрольной группы была значительно ниже в сравнении с основной группой. В контрольной группе к концу первого года лечения ремиссию достигли только 4 (22,8 %) больных (3 больных с БМИ, и 1 с МН). Во втором году 2 больных с МН достигли ремиссии к концу третьего года 5 больных (28,6%) и находились в состоянии полной ремиссии.

Состояние ремиссии в группе исследования и контроля к концу третьего года в периоде 3х летнего наблюдения показано в таблицах № 1 и № 2.

Таблица №1. Результаты лечения к концу 3-года в соответствии морфологической картиной почки в основной группе исследования.

Морфологическая картина (n)	Ремиссии	Частые рецидивы	Хроническая болезнь почек 3-й степени
ФСГС (5)	1 (20%)	2 (40%)	2 (40%)
БМИ (6)	4 (75%)	2 (25%)	0 (%)
МН (6)	3 (50%)	2 (33%)	1 (17%)

Таблица №1. Результаты лечения к концу 3-года в соответствии морфологической картиной почки в контрольной группе исследования.

Морфологическая картина (n)	Ремиссии	Частые рецидивы	Хроническая болезнь почек 3-й степени
ФСГС (5)	0 (%)	2 (40%)	3 (60%)
БМИ (7)	4 (57%)	2 (29%)	1(14%)
МН (5)	1 (20%)	2 (40%)	2 (40%)

Результаты лечения резистентного стероидам нефротического синдрома в контрольной группе короткими курсами преднизолона и пероральным цитостатиком показывает неэффективность их при лечении гистологических вариантов как МН и ФСГС.

По данным ISKDC у 80% детей с нефротическим синдромом дебют заболевания отмечался в возрасте 6 лет, а ФСГС в 8 лет [17]. Однако в нашем исследовании средний возраст детей с ФСГС составил 4,34 лет. Полученный нами результат совпадает с данными литературы о росте ФСГС у детей младшего возраста.

В нашем исследовании при резистентном стероидам нефротическом синдроме гистологические варианты как БМИ и МН встречались с одинаковой частотой (35,3 %). В нашем исследовании случаи ФСГС было больше (29,4 %) по сравнению с результатами других исследований. Выявленные случаи гипертензии (23,5 %), гематурии (20,6 %) и почечной недостаточности (11,8 %) при дебюте первичного нефротического синдрома встречались также чаще, чем описано в литературе [18].

По данным результатов исследования проведенная Dogra S и др. (2017) частота ремиссии после проведенного лечения с циклофосфамидом и преднизолоном при БМИ было меньше, чем у группы детей с ФСГС [17], а в нашем исследовании частота ремиссии превалирует у детей с БМИ.

Полученные результаты позволяет нам судить, что правильно выбранная стероидная и цитостатическая терапия для лечения резистентного стероидам нефротического синдрома у детей имеет большое значение на дальнейшее течение заболевания. Преимуществами приема преднизолона длительно через день, являются меньшая частота рецидивов, торможение развития ФСГС и почечной недостаточности. Назначение короткого курса преднизолона при резистентной стероидам нефротического синдрома имеет недостатки такие как большая частота рецидивов, высокий риск развития ФСГ и почечной недостаточности.

Заключение.

1) Наше исследование показало более высокую частоту развития резистентной стероидам нефротического синдрома (27,8 %).

2) Применение пульстерапии с метилпреднизолоном и циклофосфамидом в достижении ремиссии имеет положительный эффект у 47 % больных с стероидрезистентным нефротическим синдромом.

3) Терапия стероидрезистентного нефротического синдрома внутривенным введением метилпреднизолона и ежемесячным однократным внутривенным введением циклофосфамида в течении 1 года (кумулятивная доза внутривенных вливаний 180мг/кг) с последующим пероральным приемом преднизолона в низкой дозе в течении 2-3 года (в дозе 0,25 мг/кг через день) показала высокую эффективность при гистологических вариантах как БМИ и МН.

4) Учитывая малую эффективность стероидной и цитостатической терапии при лечении ФСГС, для лечения данного состояния нужно рассматривать другие активные методы терапии.

Список использованной литературы.

1.Lombel RM, Gipson DS, Hodson EM. Treatment of steroid-sensitive nephrotic syndrome: new guidelines from KDIGO. *Pediatr Nephrol* 2013; 28: 415-26.

2.Nourbakhsh N, Mak RH. Steroid-resistant nephrotic syndrome: past and current perspectives. *Pediatric Health Med Ther* 2017; 8: 29-37.

3.Trautmann A, Bodria M, Ozaltin F, et al. Spectrum of steroid-resistant and congenital nephrotic syndrome in children: the PodoNet registry cohort. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10: 592-600.

4.Deschenes G, Vivarelli M, Peruzzi L. Variability of diagnostic criteria and treatment of idiopathic nephrotic syndrome across European countries. *Eur J Pediatr* 2017; 176: 647-54.

5.Trautmann A, Bodria M, Ozaltin F, et al. Spectrum of steroid-resistant and congenital nephrotic syndrome in children: the PodoNet registry cohort. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10: 592-600.

6.Gipson DS, Trachtman H, Kaskel FJ, et al. Clinical trial of focal segmental glomerulosclerosis in children and young adults. *Kidney Int* 2011; 80: 868-78.

7.Trautmann A, Schnaidt S, Lipska-Zietkiewicz BS, et al. Long-term outcome of steroid-resistant nephrotic syndrome in children. *J Am Soc Nephrol* 2017; 28: 3055-65.

8.Rheault MN, Zhang L, Selewski DT, et al. AKI in children hospitalized with nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10: 2110-18.

9.Tune BM, Mendoza SA. Treatment of the idiopathic nephrotic syndrome: regimens and outcomes in children and adults. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 824-32.

10.Sinha A, Gupta A, Kalaivani M, Hari P, Dinda AK, Bagga A. Mycophenolate mofetil is inferior to tacrolimus in sustaining remission in children with idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2017; 92: 248-57.

11.Gulati A, Sinha A, Gupta A, et al. Treatment with tacrolimus and prednisolone is preferable to intravenous cyclophosphamide as the initial therapy for children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2012; 82: 1130-35.

12.Hodson EM, Willis NS, Craig JC. Interventions for idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome in children. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 10: CD003594.

13.McCaffrey J, Lennon R, Webb NJ. The non-immunosuppressive management of childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2016; 31: 1383-402.