

© З.Р. Баширова, И.М. Османов, 2022
УДК[616.61-002-056.7-053.2-03 : 612.015.3]-036.8

doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-4-80-88

ФАКТОРЫ ПРОТЕОЛИЗА В КРОВИ И МОЧЕ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ СИНДРОМА АЛЬПОРТА У ДЕТЕЙ

Зиля Рамилевна Баширова^{1✉}, Исмаил Магомедтагирович Османов²

¹ Отдел наследственных и приобретенных болезней почек, Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова Москва, Россия;
² Детская городская клиническая больница имени З.А. Башляевой, Москва, Россия

¹Z-Bash@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3915-8617>

²dgkb-bashlyayevoy@zdrav.mos.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3181-9601>

РЕФЕРАТ

ВВЕДЕНИЕ. Синдром Альпорта – редкое наследственное заболевание почек, проявляющееся прогрессирующей почечной недостаточностью. Между пациентами с синдромом Альпорта существуют значительные различия в прогрессировании заболевания. Выявление пациентов с высоким риском быстрого прогрессирования, чтобы оптимально соотносить пользу и риск для назначения терапии, стало особенно важным в настоящее время. В этом исследовании мы хотели оценить, связаны ли факторы протеолиза в крови и моче с характером течения и оценить их прогностическое значение для детей с синдромом Альпорта. **ЦЕЛЬ:** определить уровень в сыворотке крови и экскрецию с мочой ММП-2, ММП-3 и ММП-9 и их ингибиторов ТИМП-1 и 2, ПАИ-1, установить связь их изменений с характером течения синдрома Альпорта у детей в качестве дополнительного критерия прогрессирования. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследовании включено 32 ребенка с синдромом Альпорта. Уровень ММП-2, ММП-3 и ММП-9 и их ингибиторов ТИМП-1 и 2, ПАИ-1 в сыворотке крови и моче определяли методом ИФА. Снижение рСКФ на $\geq 30\%$ за 2 года от исходного уровня было выбрано для обозначения прогрессирующего течения синдрома Альпорта. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У 28,1% детей с синдромом Альпорта было прогрессирующее течение заболевания, у 71,9% – медленно прогрессирующее. Частота снижения ММП-9 и повышения ТИМП-1 как в крови (88,9 против 43,5% и 77,8 против 21,7%; $p=0,044$ и $0,006$ соответственно), так и в моче (100 против 47,8% и 88,9 против 30,4%; $0,012$ и $0,005$ соответственно) статистически значимо чаще были выявлены у детей с синдромом Альпорта с прогрессирующим течением заболевания, чем при медленно прогрессирующем. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Полученные данные нашего исследования свидетельствуют о том, что матриксная металлопротеиназа 9-го типа и тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ 1 типа могут быть рассмотрены в качестве факторов риска прогрессирования синдрома Альпорта у детей.

Ключевые слова: прогрессирование, дети, синдром Альпорта, матриксная металлопротеиназа, тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ 1-го типа

Для цитирования: Баширова З.Р., Османов И.М. Факторы протеолиза в крови и моче как прогностические маркеры прогрессирования синдрома Альпорта у детей. *Нефрология* 2022;26(4):80-88. doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-4-80-88

FACTORS OF PROTEOLYSIS IN BLOOD AND URINE AS PROGNOSTIC MARKERS OF PROGRESSION OF ALPORT SYNDROME IN CHILDREN

Zilya R. Bashirova^{1✉}, Ismail M. Osmanov²

¹ Veltischev Research And Clinical Institute For Pediatrics Of The Pirogov Russian National Research Medical University. 125412, Moscow, st. Taldomskaya, 2, Russia

² Moscow state budgetary healthcare institution «Children's City Clinical Hospital named after Z.A. Bashlyayeva, Moscow City Health Department». 125373, Moscow, Geroyev panfilovtsev street, 28, Russia

¹Z-Bash@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3915-8617>

²dgkb-bashlyayevoy@zdrav.mos.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3181-9601>

ABSTRACT

BACKGROUND. Alport syndrome is a rare hereditary kidney disease that causes progressive renal failure. There are significant differences in the progression of the disease between patients with Alport syndrome. Identifying patients with a high risk of rapid progression in order to optimally balance benefits and risks for prescribing therapy has become particularly important at this time. In this study, we wanted to assess whether the factors of proteolysis in blood and urine are associated with the nature of the course and to assess their prognostic value for children with Alport syndrome. **THE AIM:** To determine the level in blood serum and urinary excretion of MMP-2, MMP-3 and MMP-9 and their inhibitors TIMP-1 and 2, PAI-1, to show the relationship of their changes with the character of the course of Alport syndrome in children as an additional criterion for progression. **PATIENTS AND METHODS.** The study included 32 children with Alport syndrome. The level of MMP-2, MMP-3 and MMP-9 and their inhibitors TIMP-1 and 2, PAI-1, in blood serum and urine was determined by ELISA. A decrease in eGFR of $\geq 30\%$ at 2 years from baseline was chosen to indicate a progressive course of Alport syndrome. **RESULTS.** 28.1% of children with Alport syndrome had a progressive course of the dis-

ease, 71.9% had a slowly progressive course. The frequency of a decrease in MMP-9 and an increase in TIMP-1 both in blood (88.9 versus 43.5% and 77.8 versus 21.7%; $p = 0.044$ and 0.006 , respectively) and in urine (100 versus 47, 8% and 88.9 versus 30.4%; 0.012 and 0.005 , respectively) were statistically significantly more often detected in children with Alport syndrome with a progressive course of the disease than in a slowly progressive course. **CONCLUSION.** Type 9 matrix metalloproteinase and type 1 tissue matrix metalloproteinase inhibitor can be considered as risk factors for the progression of Alport syndrome in children.

Keywords: progression, children, Alport syndrome, matrix metalloproteinase, tissue inhibitor of type 1 matrix metalloproteinases

For citation: Bashirova Z.R., Osmanov I.M. Factors of proteolysis in blood and urine as prognostic markers of progression of Alport syndrome in children. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2022;26(4):80-88 (In Russ.). doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-4-80-88

ВВЕДЕНИЕ

Синдром Альпорта – наследственное заболевание почек, которое характеризуется торпидной гематурией, протеинурией, прогрессирующей почечной недостаточностью, нейросенсорной тугоухостью или типичными глазными изменениями (передний лентиконус), которые вызваны мутациями в генах *COL4A5*, *COL4A3* или *COL4A4* [1].

Альфа-цепи коллагена 4-го типа в основном расположены в почках, глазах и улитке. В 1927 г. синдром наследственного нефрита и глухоты описал британский врач А. Сесил Альпорт. Синдром Альпорта обусловлен мутациями в генах *COL4A3* (OMIM, #120070), *COL4A4* (OMIM, #120131) или *COL4A5* (OMIM, #303630), кодирующих цепи коллагена IV α 3, α 4 и α 5. Синдром Альпорта может передаваться как X-сцепленное, аутосомно-рецессивное или аутосомно-доминантное заболевание, частота встречаемости приблизительно 80, 15 и 5% соответственно [2, 3]. Распространенность X-сцепленного синдрома Альпорта оценивается в 1:10 000 населения, в то время как распространенность аутосомно-рецессивного синдрома Альпорта оценивается в 1:50 000 [4]. Прогноз при X-сцепленной форме болезни, наиболее распространенном типе синдрома Альпорта: около 50% мужчин нуждаются в диализе или трансплантации почки в возрасте до 30 лет, 80% – к 40 годам и 100% – к 60 годам. Пациенты женского пола с X-сцепленным синдромом Альпорта имеют более благоприятный прогноз: у около 12% развивается терминальная стадия почечной недостаточности к 45 годам. К 60 годам этот показатель увеличивается примерно до 30%, а к 80 годам показатель ТПН приближается к 40%. Установлено, что среди женского населения протеинурия и потеря слуха являются факторами риска прогрессирования ТПН. Для сравнения, аутосомно-рецессивная форма синдрома Альпорта может вызывать почечную недостаточность к 20 годам, в то время как аутосомно-доминантная форма заболевания обычно приводит к задержке ТПН до среднего возраста [5].

В современной клинической практике нефролога прогрессирование синдрома Альпорта определяется регулярными измерениями суточной по-

тери белка и фильтрационной функции почек. Однако эти параметры недостаточно чувствительны, чтобы предсказать прогрессирование синдрома Альпорта. Поэтому необходимы дополнительные биомаркеры для лучшего прогнозирования прогрессирования синдрома Альпорта.

Синдром Альпорта прогрессирует через последовательные этапы, начиная с изолированной гематурии, за которой следуют умеренная альбуминурия, тяжелая протеинурия и снижение фильтрационной функции почек в указанном порядке. Интервал между этапами варьирует от пациента к пациенту и зависит в первую очередь от пола и генотипа *COL4A*. Спектр скорости прогрессирования очень широк: от очень быстрого, требующего заместительной почечной терапии в подростковом или раннем взрослом возрасте, до очень медленного со смертью в пожилом возрасте с нормальной функцией почек [6].

В настоящее время целью терапии болезни почек Альпорта является максимально возможное безопасное увеличение интервалов между этапами прогрессирования. Данные экспериментальных исследований и исследований на людях показывают, что эта цель может быть эффективно достигнута с помощью лечения ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента, достигая оптимальных результатов, если его начать до того, как СКФ начнет снижаться [7–9]. Согласно недавнему консенсусу, лечение следует начинать у всех пациентов с явной протеинурией, стремясь к максимальной рекомендованной дозе (исходя из максимальной дозы рамиприла 6 мг/м² в день для детей), которую пациент будет переносить. Умеренная альбуминурия является показанием к началу лечения у пациентов мужского пола с вариантами *COL4A5*, прогнозирующими быстрое прогрессирование почечной недостаточности, а также у пациентов мужского и женского пола с аутосомно-рецессивным синдромом Альпорта [10]. К тому же в последнее время некоторые новые препараты для лечения синдрома Альпорта прошли клинические испытания или были разработаны в лабораториях, в частности, бардоксолон [11]. Для этого лечения особенно следует выбирать пациентов с высокой вероятностью быстрого прогресси-

рования заболевания, чтобы оптимально соотносить пользу и риск. В связи с этим проблема ранней диагностики прогрессирования синдрома Альпорта у детей и выявление новых маркеров фиброза почек с целью замедления прогрессирующего снижения фильтрационной функции почек до терминальной ХПН является весьма актуальной в современной нефрологии. Установление новых маркеров прогрессирования позволит дополнить имеющиеся факторы стратификации риска развития тХПН для своевременного начала терапии.

При синдроме Альпорта гипертензия и протеинурия способствуют прогрессированию болезни [12], активируя ренин-ангиотензиновую систему [13], которая вносит существенный вклад в развитие гломерулосклероза. Также хорошо известно, что синдром Альпорта – это разновидность гломерулярной болезни с типичными патологическими изменениями базальной мембраны клубочков. Однако в последние годы во многих исследованиях описываются тубулоинтерстициальные поражения при синдроме Альпорта, включая тубулоинтерстициальную инфильтрацию CXCR3-положительными Т-клетками (CXCR3 – воспалительный Т-клеточный хемокиновый рецептор) при синдроме Альпорта человека и интерстициальный фиброз, апоптоз клеток канальцев и атрофию канальцев на моделях животных с синдромом Альпорта [14–16]. Лечение ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента снижает протеинурию и ослабляет повреждение канальцев и фиброз почек, но не улучшает патологические изменения ГБМ [7,17].

Таким образом, в экспериментальных и клинических исследованиях показано, что повреждение канальцев и интерстициальный фиброз способствуют прогрессированию синдрома Альпорта. К тому же известно, что прогрессирование хронической болезни почек любой природы, в том числе и синдрома Альпорта, определяется развитием тубулоинтерстициального фиброза, который сегодня рассматривают как патоморфологический субстрат почечной недостаточности [18]. В нескольких независимых когортах пациентов с хроническим заболеванием почек различной этиологии была показана ключевая роль в процессах протеолиза в почке и связь с риском прогрессирования ХБП и неблагоприятным почечным исходом роль системы матриксных металлопротеиназ (ММП) и их ингибиторов (тканевые ингибиторы ММП (ТИМП), ингибитор активатора плазминогена I типа – ПАИ-I). В этом исследовании мы хотели оценить, связаны ли факторы протеолиза в крови и моче с характером течения синдрома Альпорта у детей и оценить их прогностическое значение для детей с синдромом Альпорта.

Таким образом, прогрессирование хронической болезни почек любой природы, в том числе и синдрома Альпорта, определяется развитием тубулоинтерстициального фиброза (ТИФ), который сегодня рассматривают как патоморфологический субстрат почечной недостаточности [19–21]. В этой связи особую актуальность приобретают изучение механизмов формирования ТИФ и разработка новых методов его торможения с целью пролонгирования додиализного этапа течения синдрома Альпорта у детей.

По литературным данным, показано, что в основе формирования ТИФ лежит дисбаланс между синтезом и протеолизом компонентов экстрацеллюлярного матрикса. Главную роль в процессах расщепления компонентов ЭЦМ играют матриксные металлопротеиназы, протеолитическая активность которых регулируется системой ингибиторов, включающей тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМП) и ингибитор активатора плазминогена I типа (ПАИ-I) [22].

При прогрессировании синдрома Альпорта увеличивается степень тубулоинтерстициального повреждения и фиброза, а матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы играют ключевую роль в этих процессах.

В этом исследовании мы хотели исследовать ассоциации факторов протеолиза в сыворотке крови и моче с характером течения синдрома Альпорта, как маркер повреждения канальцев и интерстициального фиброза у детей, и определить возможность и целесообразность использования их в качестве факторов прогрессирования.

Цель: определить уровень в сыворотке крови и экскрецию с мочой ММП-2, ММП-3 и ММП-9 и их ингибиторов ТИМП-1 и 2, ПАИ-I, установить связь их изменений с характером течения синдрома Альпорта у детей, оценить значение нарушений в системе ММП/ТИМП в качестве дополнительного критерия прогрессирования синдрома Альпорта.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 32 ребенка с синдромом Альпорта (15 мальчиков и 17 девочек), которые находились в отделении наследственных и приобретенных болезней почек имени профессора М.С. Игнатовой Обособленного структурного подразделения «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Медиана возраста пациентов на момент включения в исследование составила 10,5 (7,5; 15): медиана возраста мальчиков – 10,0 (8,0; 15,0) лет, медиана

возраста девочек – 11,0 (6,0; 15,0) лет, продолжительность катамнестического наблюдения: медиана длительности наблюдения – 5,5 лет (3,5–6,5).

Критерием включения в исследование являлось наличие синдрома Альпорта у детей в возрасте от 1 года до 17 лет. Критерии исключения: дети с гематуриями другого генеза (болезнь тонких базальных мембран, семейная IgA-нефропатия, гематурия при системных заболеваниях).

Диагностические признаки синдрома Альпорта (в дополнение к основной характеристике, наличие торпидной гематурии более 3 мес., пациенты удовлетворяют одной или нескольким вторичным характеристикам): главный критерий – стойкая гематурия; вторичные признаки – мутации в генах коллагена IV типа – это относится к гомозиготной или гетерозиготной мутации *COL4A3* или *COL4A4*, или гемизиготной, мужской пол, или гетерозиготным (женщина) мутациям *COL4A5* гена, аномальная экспрессия коллагена IV типа (цепь $\alpha 5$ -коллагена IV типа существует не только в базальной мембране клубочка и капсуле Боумена, но и в базальной мембране кожи. После иммуноокрашивания с использованием антитела против $\alpha 5$ -цепи нормальные клубочки и базальная мембрана кожи окрашиваются линейно и непрерывно. Однако клубочки, капсула Боумена и базальная мембрана кожи у пациентов мужского пола с X-сцепленным синдромом Альпорта полностью отрицательны. В клубочках частично окрашены капсула Боумена и базальная мембрана кожи пациенток. При аутосомно-рецессивном синдроме Альпорта цепи $\alpha 3$, $\alpha 4$ и $\alpha 5$ не окрашиваются в базальных мембранах клубочков, тогда как в капсуле Боумена и коже показано нормальное окрашивание $\alpha 5$ -цепей, нарушения, специфичные для базальной мембраны клубочков, специфические аномалии базальной мембраны клубочков включают широкое неравномерное утолщение базальной мембраны клубочков. Обширное истончение базальной мембраны клубочка, часто наблюдаемое при доброкачественной семейной гематурии, также наблюдается при синдроме Альпорта, который может быть единственным обнаружением базальной мембраны клубочка. В этих случаях высока вероятность синдрома Альпорта, если в этих случаях наблюдаются потеря слуха, глазные аномалии или семейная история почечной недостаточности; дополнительные признаки – семейный анамнез заболеваний почек, двусторонняя нейросенсорная глухота, глазные аномалии (специфические глазные аномалии включают передний лентиконус, заднюю субкапсулярную катаракту, заднюю полиморфную дистрофию и пятна на сетчатке), диффузный лейкомиатоз [23, 24].

Впоследствии всем детям диагноз «синдром Альпорта» был подтвержден либо проведением морфологического исследования нефробиоптата, либо проведением молекулярно-генетического исследования методом NGS. Все дети с синдромом Альпорта, включенные в исследование, имели X-сцепленный тип наследования.

Функциональное состояние почек – скорость клубочковой фильтрации (СКФ) рассчитывалась по формуле G.J. Schwartz [25].

СКФ (мл/мин/1,73 м²) = рост (см)/креатинин плазмы (мкмоль/л) x коэффициент, равный 48,6 у девочек и мальчиков младше 12 лет и 61,6 у мальчиков старше 12 лет в соответствии с классификацией хронической болезни почек Национального почечного фонда «Инициатива качества исходов болезней почек» (K/DOQI) [26].

Определение прогрессирующего течения синдрома Альпорта. Снижение рСКФ на $\geq 30\%$ за 2 года от исходного уровня было выбрано для обозначения прогрессирующего течения синдрома Альпорта (на основании заключения Консорциума прогнозов ХБП, который установил, что снижение рСКФ на $\geq 30\%$ за 2 года от исходного связано с существенным риском почечной недостаточности при ХБП с рСКФ как с < 60 мл/мин/1,73м², так и с рСКФ > 60 мл/мин/1,73м² [27].

С целью определения матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в качестве предикторов прогрессирования синдрома Альпорта все пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от снижения рСКФ за 2 года:

- 1) медленно прогрессирующее течение синдрома Альпорта определялось при снижении рСКФ на $< 30\%$ за 2 года от исходного уровня;
- 2) быстро прогрессирующее течение синдрома Альпорта определялось при снижении рСКФ на $\geq 30\%$ за 2 года от исходного уровня (далее в тексте «прогрессирующее течение»).

В исследуемых группах иммуноферментным методом проводилось определение уровня экскреции с мочой ММП-2, ММП-3, ММП-9 – протеаз, которые расщепляют основные компоненты экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ), а также ингибиторов матриксных металлопротеиназ – ТИМП-1, ТИМП-2 в моче, ПАИ-1 в моче (первая порция утренней мочи в количестве 10 мл). Определение ММП-2, ММП-3, ММП-9, ТИМП-1, ТИМП-2 в моче – с помощью набора реактивов ELISA/R&D Systems Quantikine, США; PAI-1-определяли иммуноферментным методом реактивами фирмы «Technoclone» (Австрия). Исследования показателей в моче проводилось с использованием метода твердофазного энзим-связанного иммуносорбент-

ного анализа (Elisa–enzyme-linked immunosorbent assay) на лабораторном счетчике «Wallac 1420 Multilabel Counter» (Victor 2) (Финляндия). Концентрацию медиатора в моче определяли по калибровочной кривой, которая строилась с использованием стандартных растворов с известной концентрацией прилагаемых к набору реактивов. Для стандартизации уровня ММП и их ингибиторов в моче все показатели у обследуемых детей пересчитывали на уровень креатинина в моче в мкмоль/л и выражали в мкмоль/мкмоль Сг.

Статистический анализ проводили с использованием пакетов прикладных статистических программ «SPSS Statistics v.26.0» («SPSS Inc IBM Company», США) и «GraphPad Prism 8.0» («GraphPad Software, San Diego, CA», США). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовал критерий Шапиро–Уилка, а также показатели асимметрии и эксцесса. При отличном от нормального распределения признаков оценивали медиану, разброс величин по отношению к медиане по показателю интерквартильного размаха [25–75 процентиля]. Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. При сравнении групп для независимых выборок по одному признаку использовал непараметрический критерий Манна–Уитни. Сравнение номинальных данных проводили при помощи критерия Фишера Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий и связей отвергали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от характера течения синдрома Альпорта: 1-ю группу составили дети с медленно прогрессирующим течением синдрома Альпорта – 23 (71,9%) ребенка: 8 мальчиков и 15 девочек, медиана возраста – 10,0 лет (6,0–15,0), 2-я группа – прогрессирующее течение было у 9 детей: 7 мальчиков и 2 девочки, медиана возраста – 13,0 лет (9,0–15,0).

У детей с синдромом Альпорта наследственность былаотягощена в 87,5% случаев (28 детей), из них в семьях ранняя (до 30 лет) терминальная хроническая почечная недостаточность была констатирована в 50% случаев (у 14 семей). В 6,25% случаев (у 2 детей) наследственность по синдрому Альпорта неотягощена, что предполагает заболевание *de novo*. У 2 детей (6,25%) нет данных для анализа родословной одного из родителей. Все 32 ребенка (100%) имели X-сцепленный тип наследования синдрома Альпорта.

У всех детей с синдромом Альпорта в 100% случаев дебют заболевания с мочевого синдрома с

микрогематурией, медиана возраста выявления мочевого синдрома 18 мес (10,5–36). Суточная потеря белка с мочой у 14 детей была нормальной (экскрецией белка с мочой менее $100 \text{ мг/м}^2/24 \text{ ч}$), суточная потеря белка более $100 \text{ мг/м}^2/24 \text{ ч}$ и менее $1000 \text{ мг/м}^2/24 \text{ ч}$ – у 11 человек, СПб нефротического уровня (более или равно $1000 \text{ мг/м}^2/24 \text{ ч}$) имели 7 детей. Интермиттирующая макрогематурия, возникающая в большинстве случаев во время интеркуррентных заболеваний, имела место у 62,5% детей с синдромом Альпорта ($n=20$). Средний возраст возникновения макрогематурии – 32 мес (12–42). Снижение концентрационной функции почек в виде никтурии имело место у 75% ($n=24$) детей с СА, гипоизостенурия определялась у 50% детей ($n=16$), снижение осмолярности мочи отмечалось у 56,25% детей ($n=18$).

Все дети получали иАПФ с нефропротективной и/или антигипертензивной целью.

Дети с синдромом Альпорта в зависимости от характера течения были статистически сопоставимы по возрасту, росту, длительности наблюдения в обеих группах в зависимости от характера течения ($p > 0,05$). При сравнении частоты различий гендерного состава в зависимости от характера течения выявлено, что мальчиков в группе с прогрессирующим течением синдрома Альпорта больше, чем в группе с медленно прогрессирующим ($p=0,049$) (таблица).

При проведении сравнительного анализа показателей функции почек у детей с синдромом Альпорта в зависимости от характера течения было установлено, что фильтрационная функция почек (мл/мин/1,73 м^2) статистически значимо ниже [$p=0,015$; $105,1 (90–110) \text{ мл/мин/1,73 м}^2$ и $118,9 (105–125)$ соответственно], а темпы снижения рСКФ в год ($\text{мл/мин/1,73 м}^2/\text{год}$) – статистически значимо выше [$p=0,005$; $16 (8,0–18,0)$ и $3,0 (1,5–4,5)$ соответственно] у детей с прогрессирующим течением заболевания по сравнению с детьми с синдромом Альпорта медленно прогрессирующим течением. Осмоляльность, аммиак мочи, титрационная кислотность суточной мочи, объем суточного диуреза статистически значимых различий в исследуемых группах не имели ($p \geq 0,05$).

С целью установления связи факторов протеолиза с характером течения синдрома Альпорта у детей проведен частотный анализ изменения изучаемых матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови и моче. В результате анализа было установлено, что частота сниженного уровня ММП-9 ($p=0,044$; 88,9 против 43,5%) и повышенного уровня ТИМП-1 (0,006; 77,8 против 21,7%) в крови статистически значимо чаще отмечается у

детей с прогрессирующим течением заболевания, чем с медленно прогрессирующим. Шансы выявления прогрессирующего течения при наличии указанных факторов существенно возрастали: при сниженном уровне ММП-9 – в 10,7 раза (95% ДИ: 5,11–22), при повышенном уровне ТИМП-1 – в 12,6 раза (1,96–80,7). Теснота выявленных связей между наличием прогрессирующего течения заболевания и перечисленными факторами, оцененная с помощью V Крамера, была относительно сильной для обоих факторов ($V=0,412$ и $V=0,520$ соответственно).

При проведении оценки частоты изменений факторов протеолиза в моче у детей с синдромом Альпорта в зависимости от характера течения установлено, что частота сниженного уровня ММП-9 ($p=0,012$; 100 против 47,8%) и повышенного уровня ТИМП-1 ($p=0,005$; 88,9 против 30,4%) в моче статистически значимо чаще встречается у детей с прогрессирующим течением заболевания, чем с медленно прогрессирующим. Шансы выявления прогрессирующего течения при наличии указанных факторов существенно возрастали: при сниженном уровне ММП-9 – в 1,82 раза (95% ДИ: 1,23–2,71), при повышенном уровне ТИМП-1

Таблица / Table

Клинические характеристики детей с синдромом Альпорта при включении в исследование в зависимости от характера течения
Clinical characteristics of children with Alport syndrome when included in the study, depending on the nature of the course

Показатели (n/%)/ (Me/Q ₁ -Q ₃)	Характер течения синдрома Альпорта		p
	(1) n=23 (71,9%)	(2) n=9 (28,1%)	
Пол (М/Ж, %)	8/15 (34,8/65,2%)	7/2 (77,8/22,2%)	0,049
Возраст при включении в исследование, годы	10 (7,0–14,0)	14,0 (9,0–15,0)	0,564
Рост при включении в исследование, см	139 (124–157,5)	163 (142–170)	0,092
Длительность наблюдения, годы	5,0 (3,0–6,0)	5,5 (3,5–6,5)	0,982

Примечание. (1) – медленно прогрессирующее течение синдрома Альпорта; (2) – прогрессирующее течение синдрома Альпорта.

Notes. (1) – slowly progressive course of Alport syndrome; (2) – progressive course of Alport syndrome.

– в 18,2 раза (1,96–175). Теснота выявленных связей между наличием прогрессирующего течения заболевания и перечисленными факторами, оцененная с помощью V Крамера, была относительно сильной для обоих факторов ($V=0,485$ и $V=0,527$ соответственно) (рисунок).

ОБСУЖДЕНИЕ

У больных с синдромом Альпорта большая вариабельность изменения скорости прогрессирования [28–30]. Результаты генетического исследования устанавливают мутации, однако, не всегда тип мутации при синдроме Альпорта точно может спрогнозировать как быстро пациенты будут прогрессировать.

Целью терапии при синдроме Альпорта является задержка прогрессирования до терминальной стадии почечной недостаточности. Доступная на сегодняшний день в нашей стране терапия – исполь-

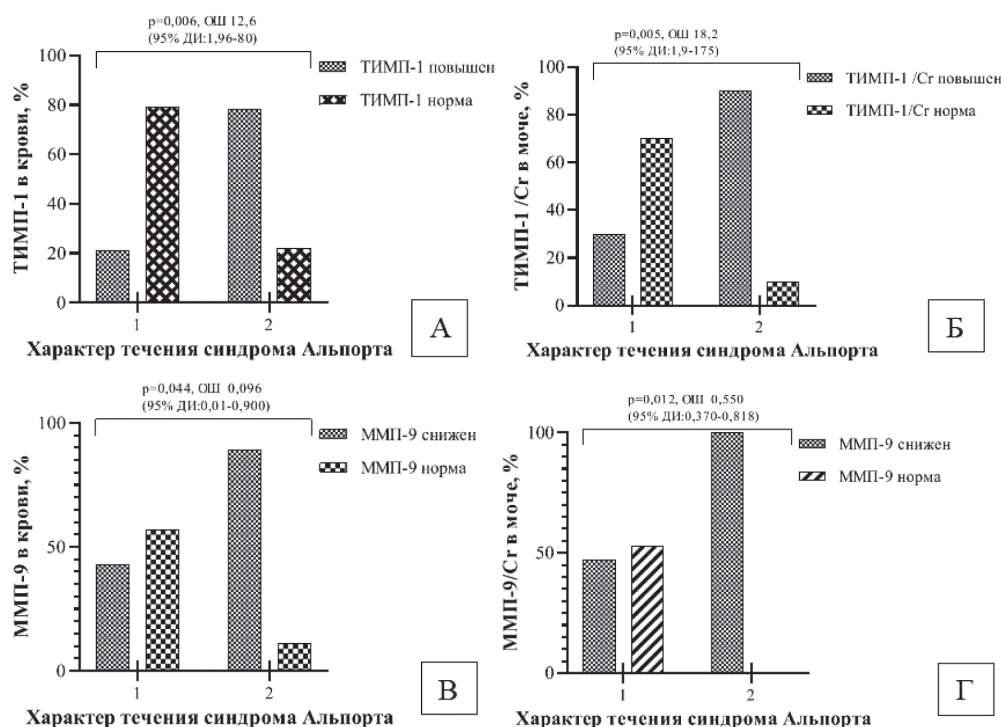


Рисунок. Частота (%) повышения ТИМП-1 в крови (А), ТИМП-1 в моче (Б), снижения ММП-9 в крови (В) и ММП-9 в моче (Г) у детей с синдромом Альпорта в зависимости от характера течения. 1 – медленно прогрессирующее течение синдрома Альпорта; 2 – прогрессирующее течение синдрома Альпорта.

Picture. Frequency (%) of an increase in TIMP-1 in the blood (A), TIMP-1 in urine (B), a decrease in MMP-9 in the blood (C) and MMP-9 in urine (D) in children with Alport syndrome, depending on the course of the disease (1 – slowly progressive course of Alport syndrome; 2 – progressive course of Alport syndrome).

зование ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента, которая снижает протеинурию, задерживает почечную недостаточность и увеличивает продолжительность жизни в зависимости от времени начала терапии и учитывая генотипические и фенотипические особенности. Однако в настоящее время проблема ранней диагностики прогрессирования наследственных заболеваний почек, в том числе и синдрома Альпорта, и выявление новых маркеров фиброза почек с целью предупреждения развития терминальной ХПН является весьма актуальной в современной нефрологии. Установление новых маркеров прогрессирования позволит дополнить имеющиеся факторы стратификации риска развития тХПН для своевременного начала терапии, когда необходимо сопоставлять риски от побочных эффектов и замедления прогрессирования, например, в настоящее время – это лечение бордоксолоном, который разрешен к применению в некоторых странах, пока не разрешен в РФ.

Хороший биомаркер представляет собой активный механизм, лежащий в основе патогенеза заболевания. Синдром Альпорта – заболевание клубочков с типичными патологическими изменениями базальной мембраны клубочков. Однако у пациентов с синдромом Альпорта сообщалось, что тубулоинтерстициальный фиброз является признаком прогрессирования заболевания почек [7, 32].

В нескольких независимых когортах пациентов с хроническим заболеванием почек различной этиологии была показана ключевая роль в процессах протеолиза в почке и связь с риском прогрессирования ХБП и неблагоприятным почечным исходом роль системы матриксных металлопротеиназ (ММП) и их ингибиторов (тканевые ингибиторы ММП, ТИМП), ингибитор активатора плазминогена 1 типа – ПАИ-1). Факторы протеолиза играют ключевую роль в патогенезе прогрессирующего тубулоинтерстициального повреждения. Увеличением экстрацеллюлярного матрикса с последующим развитием тубулоинтерстициального фиброза [33], который рассматривается как патоморфологический субстрат почечной недостаточности [18, 34].

Прогрессирующий почечный фиброз является результатом дисбаланса между образованием экстрацеллюлярного матрикса и его деградацией. Выявление ранних биомаркеров фиброза почек имеет большое значение для пациентов с хроническими заболеваниями почек, поскольку раннее начало нефропротективной терапии может отсрочить развитие продвинутых стадий ХБП.

Матриксные металлопротеиназы представляют собой большое семейство цинксодержащих ферментов в дополнение к основной роли в ремо-

делировании экстрацеллюлярного матрикса, они также расщепляют ряд поверхностных белков клеток и участвуют в многочисленных клеточных процессах [18, 35–37]. Факторы протеолиза могут быть вовлечены в инициацию и прогрессирование фиброза почек и развитие ХБП [38, 39].

Снижение скорости клубочковой фильтрации более или равно 30% за 2 года от исходного уровня было выбрано для обозначения прогрессирующего течения синдрома Альпорта. По данным нашего исследования, где была проанализирована динамика снижения фильтрационной функции почек, у 28,1% детей с синдромом Альпорта было прогрессирующее течение заболевания, у 71,9% – медленно прогрессирующее. Проведенный анализ связи матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови и моче в зависимости от характера течения показал, что факторами риска прогрессирования синдрома Альпорта у детей является снижение ММП-9 в крови [относительный риск=5,1 (2,89–9,2); чувствительность 83%, специфичность 67%, положительная прогностическая ценность 57%, отрицательная прогностическая ценность 89%] и моче [относительный риск=1,82 (1,23–2,71); чувствительность 100%, специфичность 68%, положительная прогностическая ценность 53%, отрицательная прогностическая ценность 100%] и повышение тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ 1-го типа в крови [относительный риск=3,59 (2,44–5,26); чувствительность 78%, специфичность 79%, положительная прогностическая ценность 79%, отрицательная прогностическая ценность 78%] и моче [относительный риск=6,36 (3,59–11,2); чувствительность 86%, специфичность 75%, положительная прогностическая ценность 70%, отрицательная прогностическая ценность 89%].

В литературе отсутствуют исследования связи факторов протеолиза у детей с синдромом Альпорта с тяжестью клинических проявлений, а также с течением заболевания. Однако доказано, что факторы протеолиза играют ключевую роль в расщеплении компонентов экстрацеллюлярного матрикса, базальных мембран и цитоскелета клеток. Увеличение уровня тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ, сопровождающееся снижением ММП, ассоциируется с усиленным накоплением фиброза в клубочках и особенно в тубулоинтерстиции почки, что приводит к почечной недостаточности [35, 40].

Нарушение баланса между компонентами системы ММП/ингибиторы ММП способствует прогрессированию как воспалительных, так и фиброзных изменений в почке. Можно полагать, что развитие фиброзных изменений в почке с последующим

нарушениями функции почек сопровождается угнетением локально-почечного протеолиза, что может быть следствием как усиленного образования ингибиторов, так и истощения синтеза самих протеаз [35,41–43].

В нашем исследовании у пациентов с синдромом Альпорта с прогрессирующим течением заболевания факторами риска прогрессирующего течения установлены снижение частоты ММП-9 и повышение ТИМП-1 как в крови, так и в моче.

В настоящий момент в литературе накопились данные, подтверждающие полученные нами результаты. В частности, в эксперименте у мышей с врожденным нефротическим синдромом было показано, что длительное персистирование высокой протеинурии приводит к снижению активности в почке ММП-9, что вызывает аномальное накопление экстрацеллюлярного матрикса в почке, тогда как не было значительных различий в активности ММП-3, которая также была статистически сопоставима как в зависимости от течения заболевания, так и выраженности клинических проявлений [44]. В ряде клинических и экспериментальных исследований продемонстрировано увеличение экспрессии ТИМП-1 и ПАИ-1 в ткани почки по мере формирования тубулоинтерстициального фиброза и прогрессирования почечной недостаточности [41, 45, 46]. В нашем исследовании статистически значимых связей ПАИ-1 с характером течения синдрома Альпорта не получено, вероятно, это связано с тем, что все дети, включенные в исследование, находились на терапии ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента, а как известно, стимулятором его образования является ангиотензин II [36].

В литературе обсуждается вопрос о том, что ТИМП-1 связан с почечным фиброзом, является многофункциональным белком, и избыточная экспрессия ТИМП-1 может способствовать почечному интерстициальному фиброзу через воспалительные пути [47, 48].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прогрессирование синдрома Альпорта проявляется снижением фильтрационной функции почек. Полученные данные нашего исследования свидетельствуют о том, что матриксная металлопротеиназа 9-го типа и тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ 1-го типа могут использоваться в качестве факторов риска прогрессирования синдрома Альпорта у детей.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ REFERENCES

1. Kruegel J, Rubel D, Gross O. Alport syndrome-insights from

basic and clinical research. *Nat Rev Nephrol* 2013;9(3):170–178. doi:10.1038/nrneph.2012.259

2. Fallerini C, Dosa L, Tita R et al. Unbiased next generation sequencing analysis confirms the existence of autosomal dominant Alport syndrome in a relevant fraction of cases. *Clin Genet* 2014;86(3):252–257. doi:10.1111/cge.12258

3. Morinière V, Dahan K, Hilbert P et al. Improving mutation screening in familial hematuric nephropathies through next generation sequencing. *J Am Soc Nephrol* 2014;25(12):2740–2751. doi:10.1681/ASN.2013080912

4. Hertz JM, Thomassen M, Storey H, Flinter F. Clinical utility gene card for: Alport syndrome – update 2014. *Eur J Hum Genet* 2015;23(9). doi:10.1038/ejhg.2014.254

5. Kashtan CE. Renal transplantation in patients with Alport syndrome: patient selection, outcomes, and donor evaluation. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2018 Oct 16;11:267–270. doi: 10.2147/IJNRD.S150539

6. Kashtan CE. Alport Syndrome: Achieving Early Diagnosis and Treatment. *American Journal of Kidney Diseases* 2021;77(2):272–279. doi:10.1053/j.ajkd.2020.03.026

7. Gross O, Beirowski B, Koepeke M-L et al. Preemptive ramipril therapy delays renal failure and reduces renal fibrosis in COL4A3-knockout mice with Alport syndrome. *Kidney Int* 2003;63(2):438–446. doi:10.1046/j.1523-1755.2003.00779.x

8. Gross O, Schulze-Lohoff E, Koepeke M-L et al. Antifibrotic, nephroprotective potential of ACE inhibitor vs AT1 antagonist in a murine model of renal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(7):1716–1723. doi:10.1093/ndt/gfh219

9. Gross O, Licht C, Anders HJ et al. Early angiotensin-converting enzyme inhibition in Alport syndrome delays renal failure and improves life expectancy. *Kidney Int* 2012;81(5):494–501. doi:10.1038/ki.2011.407

10. Kashtan CE, Ding J, Gregory M et al. Clinical practice recommendations for the treatment of Alport syndrome: a statement of the Alport Syndrome Research Collaborative. *Pediatr Nephrol* 2013;28(1):5–11. doi:10.1007/s00467-012-2138-4

11. Nozu K, Nakanishi K, Abe Y et al. A review of clinical characteristics and genetic backgrounds in Alport syndrome. *Clin Exp Nephrol* 2019;23(2):158–168. doi:10.1007/s10157-018-1629-4

12. Meehan DT, Delimont D, Cheung L et al. Biomechanical strain causes maladaptive gene regulation, contributing to Alport glomerular disease. *Kidney International* 2009;76(9):968–976. doi:10.1038/ki.2009.324

13. Durvasula RV, Petermann AT, Hiromura K et al. Activation of a local tissue angiotensin system in podocytes by mechanical strain. *Kidney Int* 2004;65(1):30–39. doi:10.1111/j.1523-1755.2004.00362.x

14. Jedlicka J, Soleiman A, Draganovici D et al. Interstitial inflammation in Alport syndrome. *Hum Pathol* 2010;41(4):582–593. doi:10.1016/j.humpath.2009.08.024

15. Gomez IG, MacKenna DA, Johnson BG et al. Anti-microRNA-21 oligonucleotides prevent Alport nephropathy progression by stimulating metabolic pathways. *J Clin Invest* 2015;125:141–156. doi: 10.1172/JCI75852

16. Kim M, Piaia A, Shenoy N et al. Progression of Alport kidney disease in Col4a3 knock out mice is independent of sex or macrophage depletion by clodronate treatment. *PLoS One* 2015;10:e0141231. doi: 10.1371/journal.pone.0141231

17. Bae EH, Fang F, Williams VR, Zhou X et al. Murine recombinant angiotensin-converting enzyme 2 attenuates kidney injury in experimental Alport syndrome. *Kidney Int* 2017;91:1347–1361. doi: 10.1016/j.kint.2016.12.022

18. Eddy A.A. Serine proteases, inhibitors and receptors in renal fibrosis. *Thromb Haemost* 2009; 101(4):656–664

19. Бобкова ИН, Чеботарева НВ, Козловская ЛВ, Варшавский ВА, Голицына ЕП. Экскреция с мочой моноцитарного хемотаксического протеина-1 и трансформирующего фактора роста-В₁, как показатель прогрессирования хронического гломерулонефрита. *Терапевтический архив* 2006; 78(5): 9–14
Bobkova IN, Chebotareva NV, Kozlovskaya LV, Varshavsky VA, Golitsyna EP. Urinary excretion of monocytic chemotactic protein-1 and transforming growth factor-B1 as an indicator of the progression of chronic glomerulonephritis. *Therapeutic Archive* 2006;78(5):9–14 (In Russ.)

20. Мухин НА, Козловская ЛВ, Бобкова ИН и др. Ключевая роль ремоделирования тубулоинтерстиция в прогресси-

ровании хронических заболеваний почек. *Архив патологии* 2004;(6):16–22

Mukhin NA, Kozlovskaya LV, Bobkova IN et al. The key role of tubulointerstitial remodeling in the progression of chronic kidney diseases. *Archive of pathology* 2004;(6):16–22 (In Russ.)

21. Okoń K. Tubulo-interstitial changes in glomerulopathy. II. Prognostic significance. *Pol J Pathol* 2003;54(3):163–169

22. Eddy AA, Fogo AB. Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Chronic Kidney Disease: Evidence and Mechanisms of Action. *JASN* 2006;17(11):2999–3012. doi:10.1681/ASN.2006050503

23. Flinter FA, Cameron JS, Chantler C et al. Genetics of classic Alport's syndrome. *Lancet* 1988;2(8618):1005–1007. doi:10.1016/s0140-6736(88)90753-2

24. Nozu K, Nakanishi K, Abe Y et al. A review of clinical characteristics and genetic backgrounds in Alport syndrome. *Clin Exp Nephrol* 2019;23(2):158–168. doi:10.1007/s10157-018-1629-4

25. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr Clin North Am* 1987;34(3):571–590. doi:10.1016/s0031-3955(16)36251-4

26. Levin A, Stevens PE, Bilous RW et al. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) CKD work group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney International Supplements* 2013;3(1):1–150. doi:10.1038/kisup.2012.73

27. Coresh J, Turin TC, Matsushita K et al. Decline in estimated glomerular filtration rate and subsequent risk of end-stage renal disease and mortality. *JAMA* 2014;311(24):2518–2531. doi:10.1001/jama.2014.6634

28. Jais JP, Knebelmann B, Giatras I et al. X-linked Alport syndrome: natural history in 195 families and genotype-phenotype correlations in males. *J Am Soc Nephrol* 2000;11(4):649–657. doi:10.1681/ASN.V114649

29. Hashimura Y, Nozu K, Kaito H et al. Milder clinical aspects of X-linked Alport syndrome in men positive for the collagen IV $\alpha 5$ chain. *Kidney Int* 2014;85(5):1208–1213. doi:10.1038/ki.2013.479

31. Temme J, Kramer A, Jager KJ et al. Outcomes of male patients with Alport syndrome undergoing renal replacement therapy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012;7:1969–1976. doi:10.2215/CJN.02190312

32. Gross O, Perin L, Deltas C. Alport syndrome from bench to bedside: the potential of current treatment beyond RAAS blockade and the horizon of future therapies. *Nephrol Dial Transplant* 2014;29:iv124–iv130. doi:10.1093/ndt/gfu028

33. Meran S, Steadman R. Fibroblasts and myofibroblasts in renal fibrosis. *Int J Exp Pathol* 2011;92(3):158–167. doi:10.1111/j.1365-2613.2011.00764.x

34. Ли ОА. Клиническое значение определения матричных металлопротеиназ и их ингибиторов в моче больных хроническим гломерулонефритом. *Тер Арх* 2009;81(8):10–14

Li OA. Clinical significance of determination of matrix metalloproteinases and their inhibitors in urine of patients with chronic glomerulonephritis. *Ter Arch* 2009;81(8):10–14 (In Russ.)

35. Catania JM, Chen G, Parrish AR. Role of matrix metalloproteinases in renal pathophysiology. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;292(3):F905–911. doi:10.1152/ajprenal.00421.2006

36. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003;92(8):827–839. doi:10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D

37. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006;69(3):562–573. doi:10.1016/j.cardiores.2005.12.002

38. Eddy AA. Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr Nephrol* 2000;15(3–4):290–301. doi:10.1007/s004670000461

39. Aresu L, Benali S, Garbisa S et al. Matrix metalloproteinases and their role in the renal epithelial mesenchymal transition. *Histol Histopathol* 2011;26(3):307–313. doi:10.14670/HH-26.307

40. Бобкова ИН, Козловская ЛВ, Ли ОА. Роль матричных металлопротеиназ в патогенезе заболеваний почек. *Терапевтический Архив* 2008;80(6):86–90

Bobkova IN, Kozlovskaya LV, Li OA. The role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of kidney diseases. *Therapeutic Archive* 2008;80(6):86–90 (In Russ.)

41. Ahmed A. Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Kidney Scarring: Culprits or Innocents. *Journal of Health Science – J HEALTH SCI* 2009;55:473–483. doi:10.1248/jhs.55.473

42. Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol Aspects Med* 2008;29(5):290–308. doi:10.1016/j.mam.2008.05.002

43. Strutz F, Müller GA. Renal fibrosis and the origin of the renal fibroblast. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21(12):3368–3370. doi:10.1093/ndt/gfl199

44. Uchio K, Manabe N, Tamura K et al. Decreased matrix metalloproteinase activity in the kidneys of hereditary nephrotic mice (ICGN strain). *Nephron* 2000;86(2):145–151. doi:10.1159/000045733

45. Eddy AA, Fogo AB. Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Chronic Kidney Disease: Evidence and Mechanisms of Action. *JASN* 2006;17(11):2999–3012. doi:10.1681/ASN.2006050503

46. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol* 1997;74(2):111–122

47. Cai G, Zhang X, Hong Q et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 exacerbated renal interstitial fibrosis through enhancing inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23(6):1861–1875. doi:10.1093/ndt/gfm666

48. Hörstrup JH, Gehrmann M, Schneider B et al. Elevation of serum and urine levels of TIMP-1 and tenascin in patients with renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(6):1005–1013. doi:10.1093/ndt/17.6.1005

Сведения об авторах:

Баширова Зия Рамильевна

125412, РФ, Москва, ул. Талдомская, д. 2. Обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, отдел наследственных и приобретенных болезней почек имени профессора М.С. Игнатовой. E-mail: Z-Bash@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3915-8617>

Проф. Османов Исмаил Магомедтагирович, д-р мед. наук 125373, РФ, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 28. Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Детская городская клиническая больница имени З.А. Башляевой» Департамента здравоохранения города Москвы. E-mail: dgkb-bashlyayevoy@zdrav.mos.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3181-9601>

About the authors:

Zilya R. Bashirova

125412, Russia, Moscow, st. Taldomskaya, 2. Veltischev Research And Clinical Institute For Pediatrics Of The Pirogov Russian National Research Medical University. Department of Hereditary and Acquired Kidney Disease named after Professor M.S. Ignatova. E-mail: Z-Bash@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3915-8617>

Prof. Ismail M. Osmanov

125373, Russia, Moscow, Geroyev panfilovtsev street, 28. Moscow state budgetary healthcare institution «Children's City Clinical Hospital named after Z.A. Bashlyayeva, Moscow City Health Department». E-mail: dgkb-bashlyayevoy@zdrav.mos.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3181-9601>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 19.10.2021;
одобрена после рецензирования 20.01.2022;
принята к публикации 01.11.2022
The article was submitted 19.10.2021;
approved after reviewing 20.01.2022;
accepted for publication 01.11.2022