

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE**

**”CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI**

**ȘCOALA DOCTORALĂ**

**PEDIATRIE**

***ELEMENTE DE BIOLOGIE MOLECULARĂ ÎN SINDROMUL  
NEFROTIC IDIOPATIC LA COPIL***

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. MIHAELA BĂLGRĂDEAN**

**Student-doctorand:**

**IOANA (CÎNDEA) ȚIERANU**

**2022**

# Cuprins

CUPRINS .....	2
<b>I. PARTEA GENERALĂ .....</b>	<b>3</b>
<b>1. SINDROMUL NEFROTIC IDIOPATIC – NOȚIUNI GENERALE.....</b>	<b>3</b>
<b>2. INTERLEUKINA-13 – PREZENTARE GENERALĂ.....</b>	<b>4</b>
<b>4. INTERLEUKINA-4 – PREZENTARE GENERALĂ.....</b>	<b>5</b>
<b>II. CONTRIBUȚII PERSONALE .....</b>	<b>6</b>
<b>5.1 Introducere .....</b>	<b>6</b>
<b>5.2 Legătura dintre sindromul nefrotic idiopatic și atopie .....</b>	<b>6</b>
<b>5.3 Polimorfismele genice ale <i>IL-13</i> în populația pediatrică cu sindromul nefrotic idiopatic .....</b>	<b>7</b>
<b>5.4 Materiale și metode.....</b>	<b>8</b>
<i>Stabilirea bazei de date și selecția pacienților .....</i>	<i>8</i>
<b>5.5 Rezultate și concluzii.....</b>	<b>9</b>
<b>6. ROLUL POLIMORFISMELOR MONONUCLEOTIDICE ALE GENEI <i>TNF-ALPHA</i> ÎN POPULAȚIA PEDIATRICĂ DIN ROMÂNIA CU SINDROM NEFROTIC IDIOPATIC.....</b>	<b>9</b>
<b>6.1 Introducere .....</b>	<b>9</b>
<b>6.2. Materiale și metode.....</b>	<b>10</b>
<i>Stabilirea bazei de date și selecția pacienților .....</i>	<i>10</i>
<b>6.3 Rezultate și concluzii .....</b>	<b>11</b>
<b>7. ROLUL POLIMORFISMELOR MONONUCLEOTIDICE ALE GENEI <i>IL-4</i> ÎN POPULAȚIA PEDIATRICĂ DIN ROMÂNIA CU SINDROM NEFROTIC IDIOPATIC</b>	<b>11</b>
<b>7.1 Introducere .....</b>	<b>11</b>
<b>7.2 Polimorfismele genice ale <i>IL-4</i> în populația pediatrică cu sindromul nefrotic idiopatic .....</b>	<b>12</b>

<b>7.3. Materiale și metode</b> .....	<b>12</b>
<i>Stabilirea bazei de date și selecția pacienților</i> .....	12
<b>7.4 Rezultate și concluzii</b> .....	<b>13</b>
<b>III. CONCLUZII GENERALE ȘI CONTRIBUȚIA PERSONALĂ</b> .....	<b>14</b>
<b>BIBLIOGRAFIE</b> .....	<b>17</b>

## **I. PARTEA GENERALĂ**

### **1. SINDROMUL NEFROTIC IDIOPATIC – Noțiuni generale**

Sindromul nefrotic (SN) – conform ghidului KDIGO elaborat în anul 2012 - implică prezența proteinuriei de rang nefrotic (raport proteine/creatinină urinară  $\geq 2000$  mg/g sau prezența a  $\geq 3+$  proteine pe dipstick urinar) și a hipoalbuminemiei  $\leq 2,5$  g/dl, modificări paraclinice la care se adaugă prezența edemelor. [1] Cu toate că există o multitudine de afecțiuni glomerulare – cu debut în copilărie - care pot prezenta din punct de vedere clinic și paraclinic aceste modificări, sindromul nefrotic idiopatic (SNI) reprezintă cauza cea mai frecventă. [2] Mai mult decât atât, în populația pediatrică, această entitate reprezintă cea mai frecvent întâlnită glomerulopatie dobândită. [3]

Cu toate că au fost făcute progrese importante în ceea ce privește înțelegerea funcției podocitelor – alterarea acestora fiind cea care determină proteinuria masivă – etiologia exactă a SNI reprezintă în prezent o enigmă. Există însă date în literatură care sugerează implicarea mecanismelor imunologice, atât debutul, cât și recăderile apărute în evoluția bolii fiind cel mai frecvent în corelație cu infecțiile virale ale căilor respiratorii superioare. [4]

Clasificarea SNI poate fi făcută în funcție de mai mulți parametri – răspunsul la tratamentul corticosteroid, numărul recăderilor, aspectul histopatologic observat după efectuarea biopsiei renale, etc. În ceea ce privește răspunsul la tratamentul corticosteroid, pacienții pot fi clasificați în două mari categorii – corticosensibili (prezintă remisiune completă în primele 4 săptămâni de la inițierea tratamentului corticosteroid) și corticorezistenți (persistența proteinuriilor de rang nefrotic după 6-8 săptămâni de la instituirea tratamentului). Remisiunea

completă este definită conform ghidului KDIGO din 2012 prin absența proteinuriei (raport proteine/creatinină urinară  $\leq 200$  mg/g sau prezența a  $\leq 1+$  proteine pe dipstick urinar) timp de 3 zile consecutiv[1]. Important de menționat, o parte din pacienții corticosensibili pot prezenta ulterior una sau mai multe recăderi, 50% dintre ei având recăderi frecvente sau dezvoltând în timp corticodependență. [5,6]

## **2. INTERLEUKINA-13 – Prezentare generală**

Interleukina 13 (IL-13) este o citokină a cărei genă este localizată la nivelul cromozomului 5p23-q31, aceasta din urmă fiind compusă din 6 exoni ce codifică această proteină formată din 132 de aminoacizi. [7] În prezent sunt de actualitate câteva polimorfisme de la nivelul genei *IL-13*, cum ar fi rs1800925 – localizat în regiunea promotor, rs2066960 – localizat la nivelul intronului 1, rs1295686- localizat la nivelul intronului 3, rs20541 (Arg144Gln) și rs1295685 – ambele localizate la nivelul exonului 4.

În ultimii ani, în cazul pacienților diagnosticați cu SNI au fost studiate polimorfismele genice ale mai multor molecule care și-au dovedit implicarea în afectarea funcției glomerulare. Astfel s-a dorit a se observa dacă această variabilitate genetică poate modifica susceptibilitatea de a dezvolta această patologie sau dacă poate modifica fenotipul acesteia. [8] Între acestea a fost inclusă și IL-13, fiind bine cunoscut rolul său în alterarea funcției podocitare și existând în literatură date care au evidențiat supraexprimarea ei în cazul pacienților cu SNI activ. [9,10]

Anumite polimorfisme genice ale *IL-13*, cu ar fi rs20541, și-au dovedit utilitatea în a prezice riscul pacienților pediatrici (aparținând anumitor grupuri etnice) de a dezvolta SN – varianta anatomopatologică MCD. [9]

## **3. FACTORULUI DE NECROZĂ TUMORALĂ ALPHA (TNF-ALPHA) – Prezentare generală**

Gena *TNF-alpha* este localizată în complexul major de histocompatibilitate, la nivelul brațului scurt al cromozomului 6, iar variațiile genetice care implică locusul *TNF-alpha* sunt implicate direct în producția acestei citokine. [11] Mai multe SNP-uri au fost identificate la nivelul zonei promotor (zonă deosebit de importantă pentru sinteza proteinei), acestea fiind

situate raportat la situsul inițierii transcripției, în următoarele poziții: -1031 (T→C), -863 (C→A), -857 (C→A), -851 (C→T), -419 (G→C), -376 (G→A), -308 (G→A), -238 (G→A), -162 (G→A), și -49 (G→A), o parte dintre aceste fiind însă rar întâlnite în populația caucaziană.

Dintre toate, de departe cel mai studiat SNP este cel de la poziția -308, mutația la nivelul unei singure baze azotate la această poziție (înlocuirea guaninei cu adenozina) ducând la apariția a două alele – cea comună (cu guanină) și cea mutantă (cu adenozină). Prezența acestei din urmă pare a fi asociată cu sinteză crescută de citokină – atât în mod spontan, cât și ca urmare a unor stimuli - atât in vitro, cât și in vivo. [12]

Există în prezent în literatură date contradictorii cu privire la implicarea alelei minore -308A a *TNF-alpha* în susceptibilitatea de a dezvolta SNI. Mai mult decât atât, nici influența acesteia asupra răspunsului la tratament în cazul pacienților diagnosticați cu această patologie nu a fost complet elucidată, în urma studiilor obținându-se rezultate neuniforme.

#### **4. INTERLEUKINA-4 – Prezentare generală**

Cu toate că date din literatură sugerează că SNI reprezintă o afecțiune imună asociată cu existența unui dezechilibru între citokinele secretate de limfocitele T helper 1 și cele secretate de limfocitele T helper 2 [13], până în prezent patogenia acestuia nu a fost complet elucidată.

Rezultatele unor studii susțin că pacienții care prezintă din punct de vedere anatomopatologic glomerulonefrită cu leziuni minime (MCNS), prezintă foarte frecvent un răspuns inadecvat al hipersensibilității de tip întârziat, acest aspect sugerând implicarea imunității celulare dependente de limfocitele T helper 1. [14] Suplimentar, rolul citokinelor secretate de limfocitele T helper 2 (IL-4, IL-13, etc. ) în patogenia acestei afecțiuni a fost susținută de anumiți investigatori. [15,16–18]

Interleukina 4 (IL-4) reprezintă o glicoproteină pleiotropă, identificată pentru prima dată în anul 1982, ADN-ul său complementar fiind clonat ulterior cu succes în anul 1986. [19,20]

Gena ce codifică IL-4 este o genă polimorfă, având mai multe tipuri de polimorfisme: polimorfisme mononucleotidice, inserții, deleții și alte tipuri de aranjamente (de exemplu

repetiții, transpoziții etc.). Printre cele mai studiate polimorfisme mononucleotidice ale *IL-4* se regăsesc -34C/T (rs2070874), -590G/T (rs2243250) și -1098T/G (rs2243248).

Referitor la polimorfismul -590C/T - rezultatele obținute sugerează că acesta ar fi implicat atât în prognosticul SNI, cât și în evoluția din punct de vedere clinic a acestei patologii nefrologice. [21] De asemenea, tot în cazul acestui polimorfism, s-au observat diferențe în ceea ce privește atât frecvența genotipică, cât și în ceea ce privește frecvența alelică, între pacienții diagnosticați cu SNI – MCD și lotul control. [22]

## **II. CONTRIBUȚII PERSONALE**

### **5. ROLUL POLIMORFISMELOR MONONUCLEOTIDICE ALE GENEI *IL-13* ÎN POPULAȚIA PEDIATRICĂ DIN ROMÂNIA CU SINDROM NEFROTIC IDIOPATIC**

#### **5.1 Introducere**

Interleukina 13 (IL-13) este o citokină secretată de limfocitele de tip T helper 2 (Th 2) activate, fiind un important reglator al răspunsului imun. [23] Gena care codifică IL-13 face parte din clusterul genic al citokinelor de tip Th2 de pe cromozomul 5q23-31 împreună cu genele *IL-4* și *IL-5* (Figura 5.1) și cuprinde 6 exoni ce codifică pentru două izoforme ale acestei citokine, conform datelor publicate în baza de date NCBI.[24]

#### **5.2 Legătura dintre sindromul nefrotic idiopatic și atopie**

După cum am menționat, mecanismele implicate în patogenia SNI sunt încă incomplet elucidate. Însă în ceea ce privește glomerulonefrita cu leziuni minime (MCD) - cea mai frecventă formă anatomopatologică a acestei patologii renale - datele din literatură sugerează implicarea importantă a sistemului imun.[25] Mai mult decât atât, numeroase studii au raportat existența unei legături între această variantă histologică, nivelul seric crescut al IgE și predispoziția către atopie.[26]

Printre primii care au observat asocierea dintre patologia alergică și SN au fost Fanconi et al., în anul 1951. Studiul realizat de aceștia a evidențiat că 43% dintre pacienții cu SN prezentau semnele unei "diatzeze alergice".[27] De atunci și până în prezent au fost publicate date ce au

subliniat implicarea unor multipli alergeni, cum ar fi polenul, mușgaiul sau înțepături de insecte, în apariția recăderilor la această grupă de pacienți.[28,29,30]

### **5.3 Polimorfismele genice ale *IL-13* în populația pediatrică cu sindromul nefrotic idiopatic**

În ultimii ani a fost studiată intens posibila legătură dintre polimorfismele anumitor gene ce codifică molecule implicate în funcția glomerulară și apariția SNI. Mai exact, există în literatură date cu privire la gena glypican-5 (*GPC5*) care codifică un proteoglican situat pe suprafața podocitelor, variantele moleculare ale acesteia fiind asociate atât cu injuria podocitară cât și cu proteinuria.[31] Alte molecule de interes au fost factorul inhibitor al migrării macrofagelor (*MIF*), ce pare a fi implicat în reglarea efectului imunosupresor al corticosteroizilor [32], sintetaza oxidului nitric neural (*nNOS*) care joacă un rol important în hiperpermeabilitatea glomerulară [33] și *IL-13*, aceasta din urmă modificând funcția podocitelor și fiind supraexprimată la pacienții cu SNI aflați în puseu de activitate a bolii.[9]

În ceea ce privește citokina IL-13, datele din literatură cu privire la implicarea polimorfismelor acesteia în riscul de dezvoltare al SNI și în răspunsul la tratament sunt destul de puține și neconcludente. Mai exact, studii efectuate atât în rândul populației caucaziene, cât și în rândul celei asiatice, care au analizat polimorfisme genice variate (ex. Arg144Gln (rs20541)), \*526C/A(rs848), polimorfisme din regiunea 3'UTR), au obținut rezultate contradictorii.[10,34]

**Prin urmare, scopul acestui studiu a fost să investigheze – în lotul pacienților pediatrici români diagnosticați cu sindrom nefrotic idiopatic (SNI) - dacă polimorfismele mononucleotidice ale genei *IL-13* influențează riscul de apariție al acestei patologii. De asemenea, a fost analizată relația acestor două polimorfisme atât cu răspunsul la tratamentul corticosteroid (în loturile pacienților cu SNI cortico-sensibil și cortico-rezistent), cât și cu existența unui teren atopic.**

**Acest studiu reprezintă prima cercetare din România ce a urmărit implicațiile acestor polimorfisme mononucleotidice în sindromul nefrotic idiopatic pediatric – cea mai frecventă glomerulopatie diagnosticată la copilul de vârstă mică.**

## 5.4 Materiale și metode

### *Stabilirea bazei de date și selecția pacienților*

Pentru acest proiect de cercetare au fost incluși în baza de date 75 de pacienți pediatrici internați și diagnosticați cu sindrom nefrotic idiopatic (SNI) în cadrul secției de Nefrologie a Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" din București, în perioada 2015 -2018.

Cei 75 de pacienți cu SNI (55 de sex masculin, 20 de sex feminin), având o vârstă medie de 4 ani și 9 luni, au fost diagnosticați pe baza criteriilor din ghidul propus de Kidney Disease Improving Global Outcomes.[1] Acești pacienți au fost ulterior subdivizați în două categorii: corticosensibili – cei care au obținut remisiune completă în primele 4 săptămâni de la începerea corticoterapiei (N= 62, 46 M/16 F, având o vârstă medie de 5 ani și 1 lună) și corticorezistenți – cei care nu au obținut remisiunea după 8 săptămâni de tratament corticoterapic (N=13, 9 M/4 F, având o vârstă medie de 4 ani și 6 luni).

Pentru realizarea lotului martor s-a utilizat un număr total de 110 probe. Șaizeci și șase dintre acestea aparțin Colecției de ADN a Disciplinei de Fiziopatologie și Imunologie I din cadrul Facultății de Medicină, UMF "Carol Davila," București - inițiată în anul 2006 și constituită din ADN genomic total extras din probe sanguine prelevate de la subiecți sănătoși (fără antecedente personale patologice de proteinurie, edeme sau altă afecțiune cronică renală). Aceștia sunt potențiali donatori de organe aflați în baza de date a Institutului Național de Transfuzii Sanguine "Prof Dr. C.T. Nicolau", București. Suplimentar, în lotul martor, a fost inclus un număr de 44 pacienți pediatrici admiși în secția de Nefrologie a spitalului mai sus menționat, aceștia prezentând patologii acute și fiind – de asemenea - fără antecedente personale patologice semnificative. Fiecare subiect din lotul martor a semnat un formular de consimțământ informat privind studiile de investigație genetică.

Cel de-al treilea lot implicat în această cercetare a fost cel în care au fost incluși 84 de pacienți pediatrici diagnosticați cu diverse alergii alimentare (F/M 29/55). Acești pacienți au fost incluși în lot pe baza testelor efectuate în Ambulatoriul de Specialitate (Imunologie) al Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" din București, teste care au confirmat existența afecțiunilor alergice.



## 5.5 Rezultate și concluzii

Rezultatele obținute în urma studiului nostru susțin existența unei asocieri între prezența alelei minore și protecția față de sindromul nefrotic idiopatic, pentru polimorfismul rs1800925 ( $p=0,03$ , OR 0,53). Pentru polimorfismul rs20541 frecvențele alelei minore și ale genotipurilor au fost similare în grupul de pacienți și martori, fără evidențierea unei asocieri cu SNI ( $p>0,05$ ). Haplotipul rs20541/rs1800925 CT a fost semnificativ mai frecvent la martori față de pacienții SNI ( $p=0,02$ ).

În ceea ce privește răspunsul la tratamentul corticosteroid, în studiul de față s-a observat că pentru polimorfismul rs1800925, atât frecvențele alelei minore, cât și cele ale purtătorilor alelei minore (genotipurile CT și TT) sunt semnificativ mai reduse în subgrupul pacienților cortico-rezistenți ( $p=0,02$ , OR 0,14, respectiv  $p=0,03$ , OR 0,14). Dacă rezultatele se confirmă la nivelul unor loturi mai extinse, acest SNP poate fi un marker al rezistenței la medicația imunosupresoare cortizonică.

Suplimentar, prezentul studiu nu a putut evidenția nici o corelație între polimorfismele genei *IL-13* și riscul de a dezvolta alergii alimentare.

## 6. ROLUL POLIMORFISMELOR MONONUCLEOTIDICE ALE GENEI *TNF-alpha* ÎN POPULAȚIA PEDIATRICĂ DIN ROMÂNIA CU SINDROM NEFROTIC IDIOPATIC

### 6.1 Introducere

TNF- $\alpha$  este o citokină multifuncțională de tip proinflamator, secretată de macrofage și de limfocitele T.[35] Funcțiile biologice ale TNF- $\alpha$  sunt variate, iar mecanismul de acțiune al acestuia este complex. Această proteină poate avea atât rol antiinfecțios – conferă rezistență în fața unor patogeni [36], cât și rol în apariția unor afecțiuni autoimune cum ar fi artrita reumatoidă [37], posibil datorită activării unor căi de semnalizare diferite; suplimentar, TNF- $\alpha$  are efect anti-cancerigen, în special în combinație cu Interferonul.[36,38]

Gena *TNF-alpha* este situată la nivelul brațului scurt al cromozomului 6, fiind precedată de gena *TNF-beta*[39] și în legătură strânsă cu genele complexului major de histocompatibilitate. Este alcătuită din 4 exoni și 3 introni și are o greutate de aproximativ 3kb . Au fost identificate o serie de polimorfisme la nivelul promotorului *TNF-alpha*: -1031 (T/C), -863(C/A), -857(C/T), -

419(G/C), -308(G/A), -238(G/A) și 162(G/A). Polimorfismul de la nivelul poziției -308(G/A), respectiv rs1800629, a fost asociat cu o creștere a transcripției TNF [328,329], acesta împreună cu -857(C/T) fiind aparent implicate în susceptibilitatea de a dezvolta patologii imune.[40]

În ceea ce privește rolul polimorfismelor *TNF-alpha* în susceptibilitatea de a dezvolta SNI, respectiv în răspunsul la tratamentul imunosupresor, datele din literatură sunt contradictorii. Este nevoie de studii suplimentare care să includă loturi mai mari de pacienți, pentru a putea confirma sau infirma această ipoteză.

**Obiectivul studiului nostru este obținerea unor date preliminare în ceea ce privește o posibilă asociere între două polimorfisme ale genei *TNF-alpha* (rs1799724 (-857C/T) și rs1800629 (-308G/A)) și apariția sindromului nefrotic, în populația pediatrică din România. De asemenea, am investigat eventuala relație între aceste polimorfisme și răspunsul la tratamentul corticosteroid.**

**Acest studiu reprezintă prima cercetare din România care a urmărit implicațiile acestor polimorfisme mononucleotidice în SNI.**

## **6.2. Materiale și metode**

### *Stabilirea bazei de date și selecția pacienților*

Au fost incluse în studiu 229 de persoane caucaziene neînrudite, provenite din populația României. Cei 70 de pacienți cu sindrom nefrotic (50 de sex masculin, 20 de sex feminin), având o vârstă medie de 9 ani, au fost recrutați din Departamentul de Nefrologie Pediatrică al Spitalului de Urgență pentru Copii "M. S. Curie", București. Toți pacienții cu această patologie au fost diagnosticați pe baza criteriilor din ghidul propus de Kidney Disease Improving Global Outcomes.[1] Acești pacienți au fost ulterior subdivizați în funcție de răspunsul la tratament, în două categorii: corticosensibili – cei care au obținut remisiune completă în primele 4 săptămâni de la începerea corticoterapiei (N=59, 42M/7F, având o vârstă medie de 8 ani) și corticorezistenți – cei care nu au obținut remisiunea după 8 săptămâni de tratament corticoterapic (N=11, 8M/3F, având o vârstă medie de 9 ani și 11 luni).

În lotul control au fost incluși 159 de subiecți (103 de sex masculin, 56 de sex feminin, având o vârstă medie de 39 ani) fără semne și/sau simptome sugestive pentru o afecțiune renală cronică și fără istoric personal de proteinurie sau edeme. Aceștia sunt incluși în Colecția de ADN

a Disciplinei de Fiziopatologie și Imunologie I din cadrul Facultății de Medicină UMF "Carol Davila" - București, existentă din anul 2006. Toți martorii sunt potențiali donatori de organe, înregistrați în baza de date a Institutului Național de Hematologie Transfuzională "Prof. Dr. C. T. Nicolau", București.

### **6.3 Rezultate și concluzii**

În acest studiu am investigat posibila asociere dintre două polimorfisme ale genei *TNF-alfa* și SNI, în populația pediatrică din România. În ceea ce privește polimorfismul rs1799724, cu toate ca frecvența alelei minore T a fost mai crescută în cazul subiecților control, această diferență nu a fost semnificativă din punct de vedere statistic ( $p=0,46$ ,  $OR=0,818$ ).

De asemenea, comparând pacienții cu SNI în funcție de răspunsul la tratament (corticosenzibil versus corticorezistent), nu s-a observat nici o diferență din punct de vedere statistic, nici în ceea ce privește frecvența alelică, nici în ceea ce privește frecvența genotipică. Suplimentar, nu au existat diferențe notabile între nici unul dintre cele două grupuri de pacienți și lotul control

## **7. ROLUL POLIMORFISMELOR MONONUCLEOTIDICE ALE GENEI *IL-4* ÎN POPULAȚIA PEDIATRICĂ DIN ROMÂNIA CU SINDROM NE-FROTIC IDIOPATIC**

### **7.1 Introducere**

Interleukina 4 (*IL-4*) reprezintă o citokină cu funcție puternic imunoreglatoare, ce este secretată atât de către mastocite, cât și de eozinofile, bazofile și celule T helper 2 (*Th2*).[41] Această interleukină a fost identificată de către Howard și Paul în anul 1982 [42], dovedindu-se a fi un "jucător" important în procese precum imunitatea mediată celular prin intermediul celulelor *Th2* [43] sau transformarea subsetului de imunoglobuline E în imunoglobuline B.[44] Faptul că *IL-4* este implicată în răspunsul imun este deosebit de important din punct de vedere practic, această citokină împreună cu căile sale de semnalizare fiind în prezent "ținta" unor molecule menite să trateze afecțiunile alergice.[45]

## **7.2 Polimorfismele genice ale *IL-4* în populația pediatrică cu sindromul nefrotic idiopatic**

Până în prezent, conform datelor din literatură, limfocitele Th17 și Th2 sunt implicate în patologia SN, anumite citokine sintetizate de limfocitele Th2 (*IL-4*, *IL-5*, *IL-9* și *IL-10*) promovând apariția acestei afecțiuni.[46,47]

Sunt descrise o serie de polimorfisme ale genei *IL-4*, unele dintre cele mai studiate fiind: rs2243248 (-1098 G/T, variantă upstream), rs2243250 (-590C/T, regiunea promotor), rs2070874 (-34C/T; regiunea 5'-netranslatată), rs2227284 (G/T, localizat în intron), rs2243268 (A/C, localizat în intron) și rs2234665 (numere variabile de repetări in tandem - variable number of tandem repeats, VNTR).[48]

Din punct de vedere molecular, există date care sugerează o asociere între polimorfismele genice ale *IL-4* și MCNS în populații asiatice, dar nu și în populații europene.[9,22,34]

Sunt publicate de asemenea date cu privire la posibila conexiune dintre polimorfismele anumitor citokine ce aparțin subtipului Th2 (*IL-4*, *IL-6*) și răspunsul la tratamentul corticosteroid, în populația pediatrică.[21,49,50]

**Obiectivul studiului nostru a fost obținerea unor date în ceea ce privește posibila asociere între două polimorfisme ale genei *IL-4* (rs2243250/-590C/T și rs2070874/-34C/T) și susceptibilitatea de a dezvolta SNI, în populația pediatrică din România. De asemenea, am investigat eventuala implicare a acestor polimorfisme în răspunsul la tratamentul corticosteroid.**

**Acest studiu reprezintă prima cercetare din România care a urmărit implicațiile acestor polimorfisme mononucleotidice în SNI.**

## **7.3. Materiale și metode**

### *Stabilirea bazei de date și selecția pacienților*

Au fost incluse în studiu 235 de persoane caucaziene neînrudite, provenite din populația României. Cei 75 de pacienți cu sindrom nefrotic (55 de sex masculin, 20 de sex feminin), având o vârstă medie de 4 ani și 9 luni, au fost recrutați din Departamentul de Nefrologie Pediatrică al Spitalului de Urgență pentru Copii "M. S. Curie", București. Toți pacienții cu această patologie au fost diagnosticați pe baza criteriilor din ghidul propus de Kidney Disease Improving Global

Outcomes.[1] Acești pacienți au fost ulterior subdivizați în două categorii: corticosensibili – cei care au obținut remisiune completă în primele 4 săptămâni de la începerea corticoterapiei (N=62, 46 M/16 F, având o vârstă medie de 5 ani și 1 lună) și corticorezistenți – cei care nu au obținut remisiunea după 8 săptămâni de tratament corticoterapic (N=13, 9 M/4 F, având o vârstă medie de 4 ani și 6 luni).

În lotul control au fost incluse 160 de persoane (104 de sex masculin, 56 de sex feminin), fără antecedente de proteinurie sau edeme, incluse în Colecția de ADN a Disciplinei de Fiziopatologie și Imunologie I din cadrul Facultății de Medicină, UMF "Carol Davila", București. Aceștia sunt potențiali donatori de organe aflați în baza de date a Institutului Național de Hematologie Transfuzională "Prof. Dr. C. T. Nicolau", București. Studiul a fost aprobat de către Comisia de Etică a Spitalului "M. S. Curie" București, fiind obținut acordul scris al pacienților în vederea efectuării screeningului genetic (16266/10.06.2015).

#### **7.4 Rezultate și concluzii**

În acest studiu retrospectiv am investigat posibila asociere între două polimorfisme ale genei *IL-4* și SNI, în populația pediatrică din România.

Au fost incluși 75 de pacienți pediatrici diagnosticați cu SNI și 160 de martori sănătoși, lotul de martori sănătoși cât și cel al pacienților fiind în echilibru Hardy-Weinberg pentru toate polimorfisme mononucleotidice studiate. Rata de genotipare a fost de 100%.

Rezultatele obținute în lotul control au fost comparate cu cele disponibile pentru descendenții europeni în NCBI Database of Short Genetic Variations (dbSNP). Frecvențele alelice și cele genotipice - în lotul martorilor sănătoși - pentru cele două polimorfisme investigate au fost similare cu cele raportate de HapMap-CEU pentru populația europeană.

În ceea ce privește polimorfismul rs2243250, frecvența alelei minore T a fost de 12,84% în lotul pacienților cu SNI și 17,5% în lotul martor. Astfel, cu toate că frecvența alelei minore T a fost mai crescută în cazul martorilor, această diferență nu a fost semnificativă din punct de vedere statistic ( $p=0,18$ ,  $OR=0,684$ ). Nici în ceea ce privește cel de-al doilea SNP (rs2070874) nu au existat – între cele două grupuri - diferențe semnificative din punct de vedere statistic între frecvențele alelice și cele genotipice

De asemenea, comparând lotul pacienților cu SNI cortico-sensibil cu cel al pacienților cu SNI cortico-rezistent, nu s-a observat nici o diferență din punct de vedere statistic între cele două – nici în ceea ce privește frecvența alelică, nici în ceea ce privește frecvența genotipică. Suplimentar, nu au existat diferențe notabile între nici unul dintre cele două grupuri de pacienți și lotul control.

Nivelul de dezechilibru de linkage în populația analizată a fost estimat pe baza valorii  $r^2$ , rezultând un nivel mediu ( $r^2=0,72$ ). Două variante haplotipice au avut frecvențe peste 5% în lotul martor, respectiv rs2243250/rs2070874 CC - 81% și TT - 16%. Nu s-au găsit asocieri cu riscul de apariție al SNI.

### **III. CONCLUZII GENERALE ȘI CONTRIBUȚIA PERSONALĂ**

Ca urmare a realizării celor trei studii de tip caz-control, în care am avut ca scop stabilirea existenței unor posibile corelații între polimorfismele nucleotidice ale unor citokine de tip T helper 2 și SNI - în populația pediatrică, putem concluziona următoarele aspecte:

#### **ROLUL POLIMORFISMELOR MONONUCLEOTIDICE ALE GENEI *IL-13* ÎN POPULAȚIA PEDIATRICĂ DIN ROMÂNIA CU SINDROM NEFROTIC IDIOPATIC**

1. Acesta este primul studiu care investighează polimorfisme mononucleotidice aparținând genei *IL-13* într-un lot de pacienți pediatrici diagnosticați cu SNI din România.
2. În cazul polimorfismului rs1800925 al genei *IL-13*, s-a observat o frecvență semnificativ crescută a alelei minore T în lotul martor, față de lotul pacienților cu SNI. Se poate considera astfel că prezența alelei minore reprezintă un factor de protecție în ceea ce privește dezvoltarea SNI, în populația pediatrică din România.
3. În ceea ce privește polimorfismul rs20541, frecvența alelei minore T a fost similară în lotul martor și în lotul de pacienți cu SNI, analiza statistică confirmând absența unei asocieri.

4. Rezultatele analizei haplotipurilor reconstruite au evidențiat că haplotipul rs20541/rs1800925 CT poate fi considerat un factor protectiv, fiind semnificativ mai frecvent în lotul martor față de pacienții SNI. Haplotipul CC a fost mai frecvent întâlnit în lotul pacienților, aceasta diferență nefiind însă semnificativă din punct de vedere statistic.
5. În ceea ce privește grupul de pacienți cortico-rezistenți, se observă pentru polimorfismul rs1800925 o frecvență mult scăzută – semnificativă din punct de vedere statistic - a alelei minore, cât și a purtătorilor acesteia. Prin urmare alela majoră poate fi un factor care favorizează lipsa răspunsului la tratamentul corticosteroid.
6. Analizând corelația dintre cele două polimorfisme și răspunsul la tratamentul corticosteroid, nu s-au observat diferențe semnificative statistic între lotul martor și pacienții SNI cortico-sensibili, pentru niciunul din cele două SNP-uri studiate,
7. În ceea ce privește corelarea polimorfismelor investigate cu riscul de alergii alimentare, nu s-au obținut corelații semnificative din punct de vedere statistic.

## **ROLUL POLIMORFISMELOR MONONUCLEOTIDICE ALE GENEI *TNF-alpha* ÎN POPULAȚIA PEDIATRICĂ DIN ROMÂNIA CU SINDROM NEFROTIC IDIOPATIC**

1. Din cunoștințele noastre acesta este primul studiu care a analizat posibila implicare a polimorfismelor genei *TNF-alpha* în apariția și/sau răspunsul la tratament, în cadrul unei populații cauziene cu SNI și - în particular - în populația pediatrică cu SNI din România.
2. În ceea ce privește polimorfismul rs1799724, deși frecvența alelei minore T a fost mai crescută în cazul subiecților control, această diferență nu a fost semnificativă din punct de vedere statistic.

3. De asemenea, comparând pacienții cu SNI în funcție de răspunsul la tratament (cortico-sensibil versus corticorezistent), nu s-a observat nici o diferență din punct de vedere statistic, nici în ceea ce privește frecvența alelică, nici în ceea ce privește frecvența genotipică.
4. Suplimentar, nu au existat diferențe notabile între nici unul dintre cele două grupuri de pacienți și lotul control.

### **ROLUL POLIMORFISMELOR MONONUCLEOTIDICE ALE GENEI *IL-4* ÎN POPULAȚIA PEDIATRICĂ DIN ROMÂNIA CU SINDROM NEFROTIC IDIOPATIC**

1. Scopul studiului prezent a fost de a analiza posibila asociere dintre două polimorfisme ale genei *IL-4* (-590C/T și -34C/T) și riscul de a dezvolta SNI – într-un lot de pacienți pediatrici din România. Suplimentar, am analizat implicarea acestora în răspunsul la tratamentul corticosteroid. De menționat – din cunoștințele noastre - prezenta analiză este prima la nivel național ce a verificat posibila legătura dintre polimorfismele mononucleotidice ale acestei genei și susceptibilitatea de a dezvolta SNI.
2. În ceea ce privește polimorfismul rs2243250, cu toate ca frecvența alelei minore T a fost mai crescută în lotul martorilor versus cel al pacienților, această diferență nu a fost semnificativă din punct de vedere statistic
3. De asemenea, comparând lotul pacienților cu SNI cortico-sensibil cu cel al pacienților cu SNI cortico-rezistent, nu s-a observat nici o diferență din punct de vedere statistic între cele două – nici în ceea ce privește frecvența alelică, nici în ceea ce privește frecvența genotipică.
4. Suplimentar, nu au existat diferențe notabile între nici unul dintre cele două grupuri de pacienți și lotul control.
5. Cu privire la polimorfismul -34C/T, datele obținute nu au evidențiat nici o diferență semnificativă statistică între cele două loturi studiate, în ceea ce privește frecvența



genotipică și frecvența alelică. Mai mult decât atât, acest polimorfism nu pare a fi implicat în răspunsul la tratament.

**Toate datele obținute în prezentele studii trebuie interpretate într-un mod judicios, deoarece backgroundul genetic al fiecărei populații este diferit. Astfel, aceste rezultate sunt dificil de aplicat în afara populației pediatrice studiate. De asemenea, există o limitare majoră a studiului nostru reprezentată de numărul mic al pacienților înrolați, rezultatele putând conduce la concluzii incorecte. Prin urmare, considerăm că este necesară reproducerea rezultatelor pe cohorte mai mari de pacienți pentru a determina dacă polimorfismele genice ale celor trei citokine au sau nu cu adevărat un rol atât în ceea ce privește predispoziția de a dezvolta SNI, cât și în ceea ce privește răspunsul la tratamentul corticosteroid.**

## **BIBLIOGRAFIE**

1. Kidney Disease Improving Global Outcomes. KDIGO Clinical practice guideline for glomerulonephritis. *Kidnet Int Suppl.* 2012;2:1–274.
2. Noone DG, Iijima K, Parekh R. Idiopathic nephrotic syndrome in children. *Lancet.* 2018.
3. Dossier C, Lapidus N, Bayer F, Sellier-Leclerc AL, Boyer O, de Pontual L, et al. Epidemiology of idiopathic nephrotic syndrome in children: endemic or epidemic? *Pediatr Nephrol.* 2016;
4. Yap HK, Han EJ, Heng CK, Gong WK. Risk factors for steroid dependency in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2001;16:1049–52.
5. Koskimies O, Vilska J, Rapola J, Hallman N. Long-term outcome of primary nephrotic syndrome. *Arch Dis Child.* 1982;
6. Tarshish P, Tobin JN, Bernstein J, Edelmann Jr. CM. Prognostic significance of the early course of minimal change nephrotic syndrome: report of the International Study of Kidney Disease in Children. *J Am Soc Nephrol.* 1997;
7. McKenzie AN, Culpepper JA, de Waal Malefyt R, Briere F, Punnonen J, Aversa G, et al.

Interleukin 13, a T-cell-derived cytokine that regulates human monocyte and B-cell function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90:3735–9.

8. Suvanto M, Jahnukainen T, Kestilä M, Jalanko H. Single Nucleotide Polymorphisms in Pediatric Idiopathic Nephrotic Syndrome. *Int J Nephrol*. 2016;

9. Acharya B, Shirakawa T, Pungky A, Damanik P, Massi MN, Miyata M, et al. Polymorphism of the interleukin-4, interleukin-13, and signal transducer and activator of transcription 6 genes in Indonesian children with minimal change nephrotic syndrome. *Am J Nephrol*. 2005

10. Wei CL, Cheung W, Heng CK, Arty N, Chong SS, Lee BW, et al. Interleukin-13 genetic polymorphisms in Singapore Chinese children correlate with long-term outcome of minimal-change disease. *Nephrol Dial Transplant*; 2005 [cited 2022 Apr 19];20:728–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15728267/>

11. Tsukamoto K, Ohta N, Shirai Y, Emi M. A highly polymorphic CA repeat marker at the human tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ) locus. *J Hum Genet*. 1998;

12. Mira JP, Cariou A, Grall F, Delclaux C, Losser MR, Heshmati F, et al. Association of TNF2, a TNF- $\alpha$  promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: A multicenter study. *J Am Med Assoc*. 1999;282:561–8.

13. MATHIESON PW. Cytokine polymorphisms and nephrotic syndrome. *Clin Sci*. 2003;

14. Fodor P, Saitúa MT, Rodriguez E, González B, Schlesinger L. T-Cell Dysfunction in Minimal-Change Nephrotic Syndrome of Childhood. *Am J Dis Child*. 1982;

15. Yap HK, Cheung W, Murugasu B, Sim SK, Seah CC, Jordan SC. Th1 and Th2 cytokine mRNA profiles in childhood nephrotic syndrome: evidence for increased IL-13 mRNA expression in relapse. *J Am Soc Nephrol*. 1999;

16. Kimata H, Fujimoto M, Furusho K. Involvement of interleukin (IL)-13, but not IL-4, in spontaneous IgE and IgG4 production in nephrotic syndrome. *Eur J Immunol*. 1995;25:1497–501.

17. Neuhaus TJ, Wadhwa M, Callard R, Barratt TM. Increased IL-2, IL-4 and interferon-gamma (IFN-gamma) in steroid sensitive nephrotic syndrome. *Clin Exp Immunol*. 1995;100:475–9.

18. Punnonen J, Aversa G, Cocks BG, McKenzie AN, Menon S, Zurawski G, et al. Interleukin 13 induces interleukin 4-independent IgG4 and IgE synthesis and CD23 expression by human B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;
19. Lee F, Yokota T, Otsuka T et al. Isolation and characterization of a mouse interleukin cDNA clone that expresses B-cell stimulatory factor 1 activities and T-cell- and mast-cell-stimulating activities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(7):2061–5.
20. Noma Y, Sideras P, Naito T et al. Cloning of cDNA encoding the murine IgG1 induction factor by a novel strategy using SP6 promoter. 1986;319(6055):640-646. *Nature*. 1986;319(6055):640–6.
21. Jafar T, Agrawal S, Mahdi a a, Sharma RK, Awasthi S, Agarwal GG. Cytokine gene polymorphism in idiopathic nephrotic syndrome children. *Indian J Clin Biochem*. 2011;26:296–302.
22. Kobayashi Y, Arakawa H, Suzuki M, Takizawa T, Tokuyama K, Morikawa A. Polymorphisms of interleukin-4-related genes in Japanese children with minimal change nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis*. 2003;
23. Rengarajan J, Szabo SJ GL. Transcriptional regulation of Th1/Th2 polarization. *Immunol Today*. 2000;21:479–83.
24. Kent WJ, Sugnet CW, Furey TS, Roskin KM, Pringle TH, Zahler AM HD. The human genome browser at UCSC. *Genome Res*. 2002;12:996–1006.
25. Shalhoub RJ. PATHOGENESIS OF LIPOID NEPHROSIS: A DISORDER OF T-CELL FUNCTION. *Lancet*. 1974;
26. Schulte-Wisserman H, Gortz W, Straub E. IgE in patients with glomerulonephritis and minimal-change nephrotic syndrome. *Eur J Pediatr*. 1979;131:105–11.
27. FANCONI G, KOUSMINE C FKW. Prognosis of the nephrosis syndrome. *Helv Paediatr Acta*. 1951;6:219-24.
28. Reeves WG, Cameron JS, Johansson SG, Ogg CS, Peters DK, Weller RO. Seasonal nephrotic syndrome. Description and immunological findings. *Clin Allergy*. 1975;

29. Wittig HJ, Goldman AS. NEPHROTIC SYNDROME ASSOCIATED WITH INHALED ALLERGENS. *Lancet*. 1970;
30. RYTAND DA. Onset of the nephrotic syndrome during a reaction to bee sting. *Stanford Med Bull*. 1955;13:224–33.
31. Okamoto K, Tokunaga K, Doi K, Fujita T, Suzuki H, Katoh T, Watanabe T, Nishida N, Mabuchi A, Takahashi A, Kubo M, Maeda S, Nakamura Y NE. Common variation in GPC5 is associated with acquired nephrotic syndrome. *Nat Genet*. 2011;43:459–63.
32. M. Vivarelli, L.E.D"Urbano GS. Association of the macrophage migration inhibitory factor –173\*C allele with childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2008;23:743–8.
33. Alasehirli B, Balat A, Barlas O KA. Nitric oxide synthase gene polymorphisms in children with minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr Int*. 2009;51:75–8.
34. Tenbrock K, Schubert A, Stapenhorst L, Kemper MJ, Gellermann J, Timmermann K, et al. Type I IgE receptor, interleukin 4 receptor and interleukin 13 polymorphisms in children with nephrotic syndrome. *Clin Sci*. 2002;102:507–12.
35. Weissbach A, Garty BZ, Lagovsky I, Krause I, Davidovits M. Serum Tumor Necrosis Factor-Alpha Levels in Children with Nephrotic Syndrome: A Pilot Study. *Isr Med Assoc J* [Internet]. Israel; 2017 [cited 2022 Apr 20];19:30–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28457111/>
36. Fiers W. Tumor necrosis factor. Characterization at the molecular, cellular and in vivo level. *FEBS Lett*. England; 1991;285:199–212.
37. Beutler BA. The role of tumor necrosis factor in health and disease. *J Rheumatol Suppl* [Internet]. Canada; 1999 [cited 2022 Apr 20];57:16–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10328138/>
38. Jafar T, Agrawal S, Mahdi AA, Sharma RK, Awasthi S, Agarwal GG, et al. Does cytokine gene polymorphism affect steroid responses in idiopathic nephrotic syndrome? *J Biol Chem* [Internet]. United States; 2017;19:18324–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29218062%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5706754>

39. Spriggs DR, Deutsch S, Kufe DW. Genomic structure, induction, and production of TNF- $\alpha$ . *Immunol Ser.* 1992;56:3–34.
40. Xiao M, Bai S, Chen J, Xie L, Li Y, Li Y, et al. Correlation of TNF- $\alpha$  and IL-10 gene polymorphisms with primary nephrotic syndrome. *Exp Ther Med.* 2020;20:87.
41. Gadani SP, Cronk JC, Norris GT, Kipnis J. IL-4 in the brain: a cytokine to remember. *J Immunol* [Internet]. *J Immunol*; 2012 [cited 2022 Apr 20];189:4213–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23087426/>
42. Howard M, Farrar J, Hilfiker M, Johnson B, Takatsu K, Hamaoka T, et al. Identification of a T cell-derived B cell growth factor distinct from interleukin 2. *J Exp Med* [Internet]. *J Exp Med*; 1982 [cited 2022 Apr 20];155:914–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6977612/>
43. Seder RA, Paul WE, Davis MM, Fazekas de St. Groth B. The presence of interleukin 4 during in vitro priming determines the lymphokine-producing potential of CD4+ T cells from T cell receptor transgenic mice. *J Exp Med* [Internet]. *J Exp Med*; 1992 [cited 2022 Apr 20];176:1091–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1328464/>
44. Geha RS, Jabara HH, Brodeur SR. The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. *Nat Rev Immunol* [Internet]. *Nat Rev Immunol*; 2003 [cited 2022 Apr 20];3:721–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12949496/>
45. Junttila IS. Tuning the Cytokine Responses: An Update on Interleukin (IL)-4 and IL-13 Receptor Complexes. *Front Immunol* [Internet]. *Front Immunol*; 2018 [cited 2022 Apr 20];9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29930549/>
46. Stachowski J, Krynicki T, Barth C, Runowski D, Lewandowska-Stachowiak M, Warzywoda A, Bortkiewicz E, Dobosz M MJ. Does the changed Th1/Th2 activity in children with the assessment of body water in children with nephrotic syndrome: initial results. *Pol Merkur Lek.* 2000;8:222–4.
47. Wang L, Li Q, Wang L, Li C, Yang H, Wang X TH. The role of Th17/IL-17 in the pathogenesis of primary nephrotic syndrome in children. *Kidney Blood Press Res.* 2013;37(4-5):332-45. *Kidney Blood Press Res.* 2013;37:332–45.

48. Anovazzi G, Medeiros MC, Pigossi SC, Finoti LS, Souza Moreira TM, Mayer MPA, et al. Functionality and opposite roles of two interleukin 4 haplotypes in immune cells. *Genes Immun* [Internet]. *Genes Immun*; 2017 [cited 2022 Apr 20];18:33–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28053321/>
49. Tripathi G, Jafar T, Mandal K, Mahdi A a, Awasthi S, Sharma RK, et al. Does cytokine gene polymorphism affect steroid responses in idiopathic nephrotic syndrome? *Indian J Med Sci*. 2008;62:383–91.
50. Hanan A. Madani HMB and HR. Association of cytokine genes polymorphisms and the response to corticosteroid therapy in children with idiopathic nephrotic syndrome: A pilot study in Egypt. *Int Res J Med Med Sci*. 2014;2:84–90.

## **LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE**

1. **Tieranu I**, Tieranu CG, Dutescu MI, Berghea CE, Balgradean M, Popa OM. Genetic Variants of Interleukin-4 in Romanian Patients with Idiopathic Nephrotic Syndrome. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Feb 10;58(2):265. [Medicina | Free Full-Text | Genetic Variants of Interleukin-4 in Romanian Patients with Idiopathic Nephrotic Syndrome \(mdpi.com\)](#)
2. **Tieranu I**, Dutescu MI, Bara C, Tieranu CG, Balgradean M, Popa OM. Preliminary Study Regarding the Association between Tumor Necrosis Factor Alpha Gene Polymorphisms and Childhood Idiopathic Nephrotic Syndrome in Romanian Pediatric Patients. *Maedica (Bucur)*. 2017 Sep;12(3):164-168. [Preliminary study regarding the association between tumor necrosis factor alpha gene polymorphisms and childhood idiopathic nephrotic syndrome in Romanian pediatric patients – MÆDICA – a Journal of Clinical Medicine \(maedica.ro\)](#)