ISSN 1561-6274. Нефрология. 1999. Том 3. № 4.

© Коллектив авторов, 1999
УДК 612.014:616.611-002.1-018

С.И.Рябов, И.А.Ракитянская, Наджиб Ваза Абу-Асба, И.К.Клемина, В.А.Титова, Т.В.Абрамова

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЧЕЧНОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ

S.I.Ryabov, I.A.Rakityanskaya, Nagib Waza Abo-Asba, I.K.Klemina, V.A.Titova, T.V.Abramova

IMMUNOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE RENAL TISSUE IN PATIENTS WITH ACUTE GLOMERULONEPHRITIS

Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

Выделены 4 типа острого пролиферативного гломерулонефрита, основываясь на иммунофлюоресцентном исследовании биопсийной ткани больных: «мезангиальный», «гирляндный», «звездное небо» и «иммунонегативный». Последний тип был описан нами впервые. Одновременно установлена разная степень изменений подоцитов — более выраженная при гирляндном типе и отсутствие — при иммунонегативном. Клинические проявления и исход болезни определяются типом острого пролиферативного гломерулонефрита. Поэтому всем больным с подозрением на острый пролиферативный гломерулонефрит необходимо проводить световую, электронную и иммунофлюоресцентную микроскопию почечного биоптата.

Ключевые слова: острый пролиферативный гломерулонефрит, тип, апоптоз, пролиферация, лимфоидная инфильтрация, цитокины, подоциты.

ABSTRACT

Four types of acute proliferative glomerulonephritis were determined on the basis of immunofluorescent investigations of the biopsy tissue of the patients. They are: mesangial, garland-like, «starry sky» and immunonegative types. We were the first to describe the last one. Different degrees of changes of the podocytes were established simultaneously. The degree was more pronounced in the garland-like type and was absent in the immunonegative one. Clinical manifestations and outcome of the disease are dependent on the type of acute proliferative glomerulonephritis. Therefore the light, electron and immunofluorescent microscopy of the kidney bioptate should be performed in all the patients with suspected acute proliferative glomerulonephritis.

Key words: acute proliferative glomerulonephritis, type, apoptosis, proliferation, lymphoid infiltration, cytokines, podocytes.

ВВЕДЕНИЕ

Острый гломерулонефрит (ОГН) является пролиферативным иммуновоспалительным заболеванием почек, связанным с инфекционными антигенами.

В настоящее время считается, что провоцирующим фактором развития заболевания может явиться любая, в том числе и вирусная инфекция.

Роль стрептококка в генезе ОГН резко уменьшилась и на его долю приходится не более 50% случаев [10].

Определенную роль в развитии данного заболевания имеют и генетические факторы [1].

В 1982 г. K.Sorger и соавт. [11] по иммунофлюоресцентной картине выделили 3 типа ОГН. При этом авторами найдена связь между иммунофлюоресцентной и клинической картиной заболевания. Работ на данную тему в отечественной литературе не имеется.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Нами обследованы 40 больных, которые наблюдались в течение последних 10 лет. У 28 из них проведено иммуногистохимическое исследование почечного биоптата с использованием моноклональных антител с Fitc меткой фирмы «Dako» (Германия). Одновременно исследовались отложения IgG, A, M, фибриногена, состав лимфоидной инфильтрации (CD4, CD8,

CD25, CD71, HLA-DR-DP- DQ/CD8, TdT), IL-6, IL-6R, IL-8, IL-10, TNF-α, апоптоз (bcl-2) и пролиферация по S-фазе митотического цикла (моноклональное антитело—антибромдеоксиуридин). Кроме световой, проводилась электронная микроскопия с целью изучения функционального состояния подоцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основываясь на данных, полученных по биопсийному материалу, были выделены следующие типы острого пролиферативного гломерулонефрита (ОПГН) в зависимости от характера отложений иммуноглобулинов:

1) «мезангиальный»; 2) «звездное небо»; 3) «гирляндный»; 4) «иммунонегативный».

Иммунонегативный тип ОПГН отличался отсутствием отложений каких-либо классов Ig в клубочках и в интерстиции. Полученные данные по частоте встречаемости каждого типа приведены в табл. 1.

Исходя из того, что тип «звездное небо» был представлен всего двумя больными, эта группа не подлежала статистической обработке.

Учитывая, что все типы ОПГН протекают по-разному, то и протеинурия на момент выписки у них различается (табл. 2). Из данных, приведенных в табл. 2, видно, что у больных с «иммунонегативным» и «мезангиальным» типом выявляется при выписке из стационара наибольший процент отсутствия протеинурии (50% и 36,4%, соответственно). При «гирляндном» типе только у 28,5% больных при выписке отсутствует протеинурия.

Далее были проведены сравнительный анализ данных состава лимфоидной инфильтрации, отложений цитокинов, оценка пролиферативной активности гломерулярных и интерстициальных клеток и состояние апоптоза.

Анализ проводился отдельно в гломерулярной зоне и в интерстициальном пространстве (табл. 3, 4).

Таблица 1

Соотношение различных типов ОПГН по данным иммунофлюоресцентного анализа биоптатов

Тип ОПГН	Число больных	%
«Мезангиальный»	11	39
«Гирляндный»	7	25
«Звездное небо»	2	7
«Иммунонегативный»	8	29
Всего	28	100

Таблица 2

«Разовая» протеинурия в различных группах больных с ОПГН на момент выписки из стационара

Тип ОПГН	Число наблюдений	Протеинурия на момент выписки
«Мезангиальный»	11	У 4 больных — 0 г/л (36,4%) У 7 больных — 0,49±0,25 г/л (63,6%)
«Гирляндный»	7	У 2 больных — 0 г/л (28,6%) У 5 больных — 0,89±0,60 г/л (71,4%)
«Звездное небо»	2	0 г/л
«Иммунонегативный»	8	У 4 больных — 0 г/л (50%) У 4 больных — 0,27±0,18 г/л (50%)

Таблица 3

Иммуногистохимические показатели ткани клубочка при разных типах ОПГН

Исследуемые показатели	Типы ОПГН		
	«Мезангиальный»	«Иммунонегативный»	«Гирляндный»
CD4	0	0	2,25
CD8	0	0	8
CD25	2	0	4,8
CD71	0	0	8
HLA-DR-DP-DQ/CD8	1	3	5,5
My-9	0	0	13,5
IL-10	1,6	1,6	16
IL-6	0	0	1
IL-6R	0	0	2,3
IL-8	0,36	0	0,5
TNF-α	0,2	0	0,5
TdT	0,4	0,3	0
S-фаза (клетки)	5	5	15
Апоптоз	21	19	2

Примечание. Здесь и в табл. 4: CD4, CD8, CD25, CD71, HLA-DR-DP-DQ/CD8, My-9, IL-6R, TdT, S-фаза, апоптоз — абсолютное количество клеток; IL-10, IL-6, IL-8, TNF-α — баллы.

Таблица 4

Иммуногистохимические показатели ткани интерстиция при различных типах ОПГН

Исследуемые показатели	Типы ОПГН		
	«Мезангиальный»	«Иммунонегативный»	«Гирляндный»
CD4	0	0	14
CD8	0	0	14
CD25	1,6	0	15,3
CD71	0	0	3
HLA-DR-DP-DQ/CD 8	2,3	2	12
My-9	0	0	22,25
IL-10	0	0	1,3
IL-6	0	0	1
IL-6R	0	0	1,3
IL-8	0,21	0	0
TNF-α	0,20	0	0,5
TdT	0,18	0	0
S-фаза (клетки)	3	2	0
Апоптоз (клетки)	6	6	18

При сравнительном анализе лимфоидного инфильтрата в биоптате почки при разных типах ОПГН обращает на себя внимание отсутствие инфильтрата в клубочке при «мезангиальном» и «иммунонегативном» типах ОПГН. В противоположность при «гирляндном» типе имеется лимфоидный инфильтрат клубочка. Обращает внимание факт нормального содержания у всех больных в периферическом русле ранних лимфоидных элементов, несущих маркерный фермент — терминальную дезоксинуклеотидилтрансферазу — TdT+-клетки.

Эти клетки, преобретая трофическую функцию, тем самым участвуют в нормальных процессах физиологической пролиферации в клетках любого гистотипа [4]. Тем не менее, в клубочках эти клетки редко присутствуют при «мезангиальном» и «иммунонегативном» типах, а при «гирляндном» типе всегда отсутствуют. Отложения цитокинов (IL-10, IL-6, IL-8, TNF-α) отсутствуют практически все, кроме незначительного количества IL-10, играющего положительную роль, подавляющего моноцитарно-макрофагальную реакцию, а следовательно, продукцию IL-1, который активно участвует в усилении пролиферации гломерулярных клеток при «иммунонегативном» типе.

При «мезангиальном» типе присутствует незначительное количество IL-10, IL-8, TNF-α. IL-8 является продуктом жизнедеятельности нейтрофилов в клубочке, а TNF-α, который присутствует в очень маленьком количестве, участвует в пролиферативных процессах гломерулярных клеток.

При «гирляндном» типе встречаются отложения всех цитокинов в клубочке, что является следствием пролиферации мононуклеаров в инфильтрате и выбросе во внеклеточное пространство цитокинов (рис. 1). Именно при этом типе отмечается высокая пролиферативная активность гломерулярных клеток (15 клеток в клубочке). В то же время система апоптоза, которая направлена на очищение пролиферирующих гломерулярных клеток, при «гирляндном» типе находится в состоянии депрессии (2 клетки в клубочке).

При «мезангиальном» и «иммунонегативном» типах выявляется противоположная картина — умеренная пролиферация клеток (по 5 клеток в клубочке). Но при этом отмечается активность системы апоптоза, направленная на очищение и восстановление структуры клубочка (21 клетка в стадии апоптоза и 19 клеток в клубочке, соответственно).

Аналогичный сравнительный анализ (лимфоидная инфильтрация, цитокины, пролиферация, апоптоз) был проведен в интерстициальном пространстве при разных типах ОПГН (см. табл. 4).

При анализе состава лимфоидного инфильтрата в интерстициальном пространстве обращает внимание схожесть отсутствия основных мононуклеаров в инфильтрате при «мезангиальном» и «иммунонегативном» типах ОПГН. В очень малом количестве (2 клетки в поле зрения) присутствуют CD8-супрессоры с мембранным антигеном DP-DQ локуса DR системы HLA, что является показателем активности клеток супрессорного фенотипа под влиянием экзогенного антигена, персистирующего в организме больного.

В группе «иммунонегативного» типа полностью отсутствуют TdT+-клетки, обладающие трофической функцией, и все цитокины.

При «мезангиальном» типе из всех исследуемых цитокинов присутствует очень малое содержание IL-8, который является продуктом жизнедеятельности, в первую очередь нейтрофилов.

Процессы пролиферации гломерулярных клеток при «мезангиальном» и «иммунонегативном» типах ОПГН носят одинаковый характер — в пределах физиологической. Аналогично и процесс апоптоза находится в пределах физиологической нормы.

Противоположные данные получены при «гирляндном» типе: богатый лимфоидный инфильтрат, представленный всеми исследуемыми мононуклеарами, отсутствуют только TdT+-клетки. Отмечается большое количество моноцитов — 22–25 в поле зрения. Также имеются отложения IL-10, IL-6, TNF-α.

Пролиферация интерстициальных клеток отсутствует, но при этом выявлена высокая активность апоптоза (18 клеток в поле зрения), что свидетельствует о поражении и гибели интерстиция, гораздо быстрее при «гирляндном» типе (рис. 2).

В связи с этим возникла необходимость посмотреть степень изменения интерстиция и канальцев с выраженностью механизма апоптоза при всех типах ОПГН.

Из данных, приведенных в табл. 5, следует, что самым неблагоприятным типом ОПГН является «гирляндный», так как именно при этом типе активизируется механизм апоптоза в ин-

Таблица 5

Связь между выраженностью апоптоза в интерстиции и степенью дистрофии эпителия канальцев*

Тип ОПГН	τ	p
«Гирляндный»	0,58	<0,004
«Мезангиальный»	–	–
«Иммунонегативный»	–	–

*Здесь и далее в табл. 7–14 приведен коэффициент ранговой корреляции Кендела.

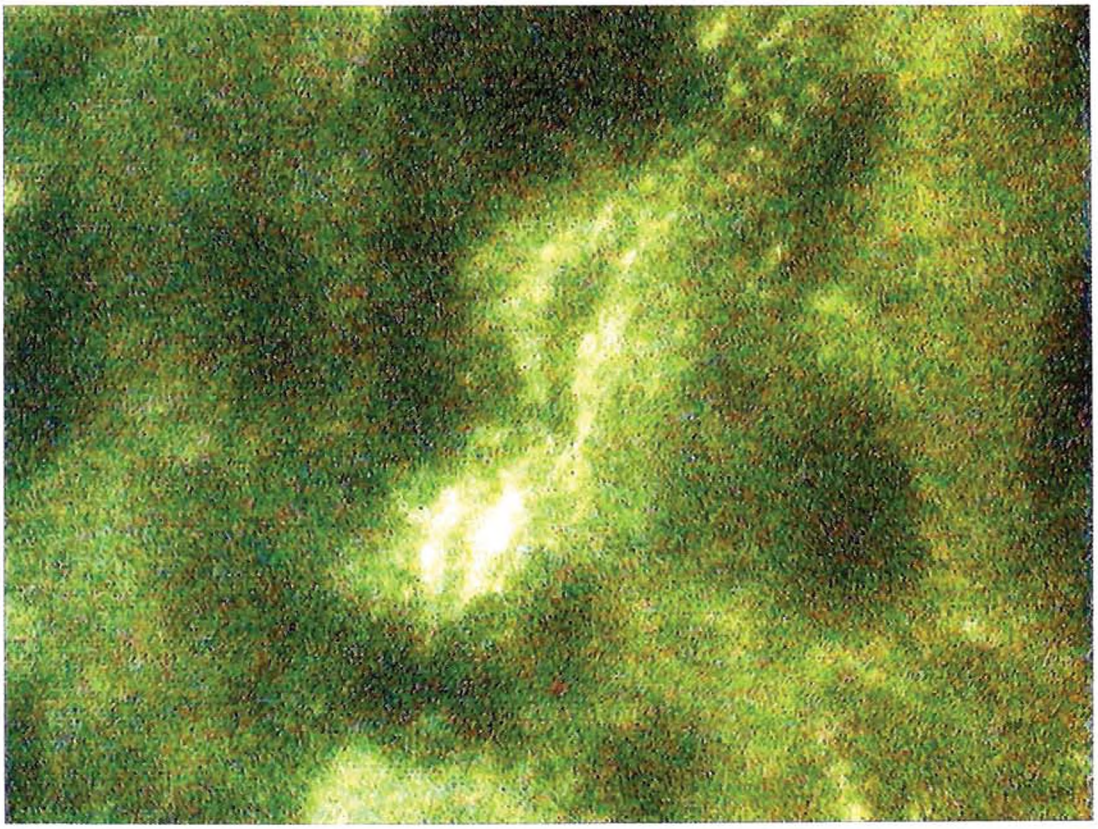

Рис. 1. Внутриклеточное и внеклеточное содержание TNF-α в эпителии канальцев при «гирляндном» типе ОПГН.
Иммунофлюоресцентная микроскопия (TNF-α-Fitc). Ув. 1040.

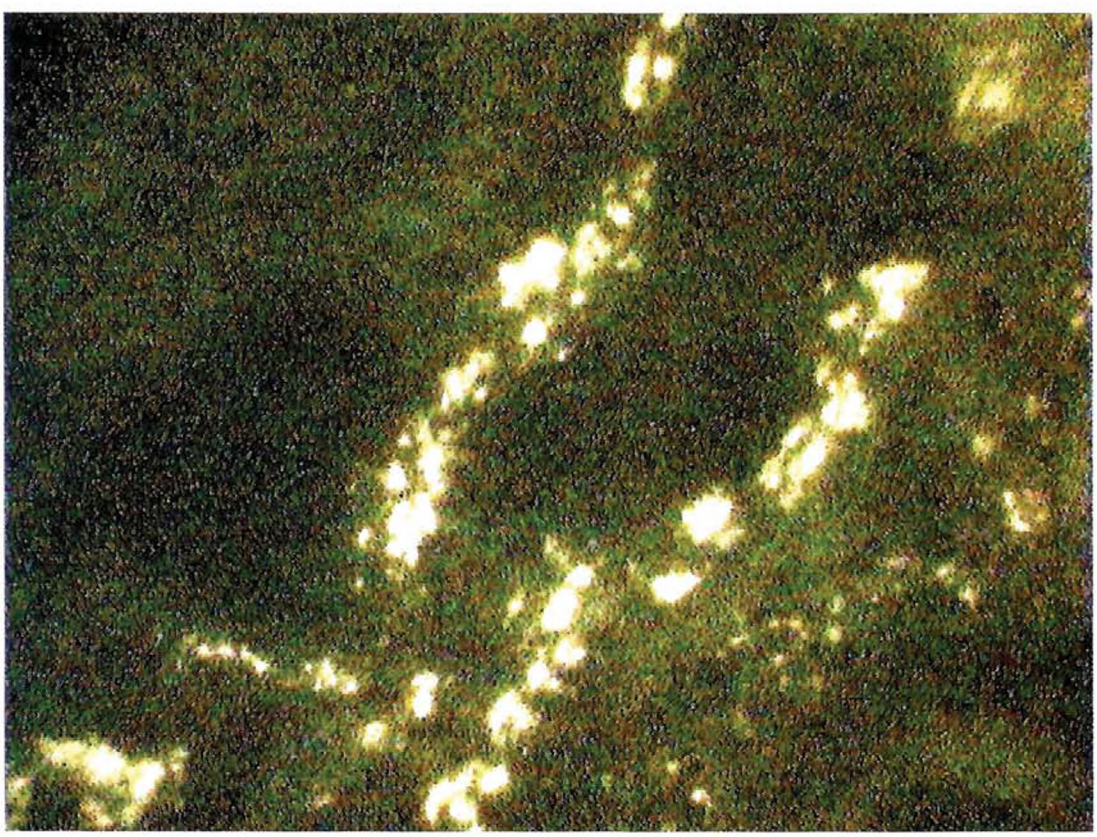

Рис. 2. Клетки эпителия канальцев в состоянии апоптоза при «гирляндном» типе ОПГН.
Иммунофлюоресцентная микроскопия (bcl-2-Fitc). Ув. 1040.

терстиции, что и приводит к более быстрому развитию поражения эпителия канальцев, а соответственно, возможности развития хронизации заболевания. Это подтверждается и отсутствием эпителиальных и интерстициальных клеток в стадии пролиферации.

В момент апоптоза гибнут любые клетки — и тканевые, и присутствующие в составе лимфоидного инфильтрата. Морфологию клетки определить невозможно, так как клеточная смерть наступает очень быстро. Но в пользу нашего предположения говорит тяжесть поражения эпителия канальцев и отсутствие пролиферации. При «мезангиальном» и «иммунонегативном» типах это влияние отсутствует, так как процесс апоптоза в интерстиции имеет физиологический характер.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что течение «гирляндного» типа наиболее неблагоприятное, что объясняется выраженной иммунной реакцией в почке: богатый лимфоидный инфильтрат в клубочках и в интерстиции, наличие цитокинов, что свидетельствует об активности иммунопатологической реакции. При «мезангиальном» и «иммунонегативном» типах изменения носят противоположный характер: отсутствие лимфоидного инфильтрата и цитокинов. Кроме того, выявлена физиологическая пролиферация гломерулярных клеток и активный апоптоз, направленный на очищение клубочка, предотвращение развития гиперклеточности и восстановление структуры. В интерстиции апоптоз и пролиферация носят физиологический характер.

В противоположность этому при «гирляндном» типе выявлена активация апоптоза в интерстиции, что свидетельствует о гибели ткани.

Все вместе взятое объясняет неблагоприятный прогноз «гирляндного» типа ОПГН и возможность хронизации, тогда как при других типах возможно наступление выздоровления за счет указанных причин.

Определенный интерес представляет «иммунонегативный» тип ОПГН. При этом варианте в клубочках и в интерстиции ничего не определяется: нет отложений иммуноглобулинов, нет лимфоидного инфильтрата, нет отложений цитокинов, в клубочке и в интерстиции — физиологическая пролиферация клеток нефрона, в клубочках — активный процесс апоптоза.

Отсутствие иммуноглобулинов можно попытаться объяснить усилением процессов фагоцитоза мезангиальными клетками, подоцитами, макрофагами и нейтрофилами.

Процесс апоптоза в клубочке — достаточно активный. Возможно, незначительное количество моноцитов, если они туда мигрировали из крови, тут же уничтожаются. Также процесс апоптоза в клубочке активно вычищает и восстанавливает структуру клубочков (у 7 больных из 8 — выраженная гиперклеточность). Этот тип ОПГН очень отличается от других по иммуноморфологической характеристике.

Кроме описанных выше иммуноморфологических изменений, выявленных методом иммунофлюоресценции при разных типах ОПГН, нами были проанализированы данные электронной микроскопии — в частности, состояние и функциональная активность подоцитов.

Полученные данные проанализированы и представлены в табл. 6.

Таблица 6

Состояние подоцитов при разных типах ОПГН

«Мезангиальный»	«Иммунонегативный»	«Гирляндный»
Подоциты гипертрофированы, с признаками повышенной клеточной активности, содержат липидные включения, вакуоли, микроворсинки. Ножковые отростки деформированы, в большинстве очагово «слиты»	Подоциты не увеличены, ножковые отростки сохранены	Подоциты увеличены, ножковые отростки деформированы и «слиты»

Из данных табл. 6 следует, что при электронной микроскопии имеются четкие различия в состоянии подоцитов при разных типах ОПГН.

Наибольшие изменения отмечаются при «гирляндном» типе. Подоциты увеличены в размерах, ножковые отростки деформированы и «слиты», т. е. происходит утрата экспрессии α3β1-интегриновых рецепторов на ножковых отростках, посредством которых подоцит прикрепляется к базальной мембране. В данном случае происходит его отрыв от мембраны. Подоцит теряет свою способность фагоцитировать иммунные комплексы, в результате формируются субэпителиальные депозиты. В ответ подоцит продуцирует ламинин, гепарансульфат протеогликан, коллаген IV, V, которые в виде выростов lamina densa окружают субэпителиальный слой базальной мембраны над депозитами и замуровывают их, погружая в базальную мембрану, вызывая ее утолщение [2, 3].

При «мезангиальном» типе подоциты гипертрофированы за счет увеличения нагрузки, отмечается повышенная клеточная активность, способны к фагоцитозу иммунных комплексов. Полного отрыва ножковых отростков от базальной мембраны не наблюдается, т. е. сохраняется способность к экпрессии α3β1-интегриновых рецепторов, посредством которых подоцит прикрепляется к базальной мембране. Часть

субэпителиальных депозитов лизируются мембраноатакующим комплексом C5b–C9 и отдельными фрагментами комплемента, которые подоцит способен секретировать самостоятельно [9]. C5b–C9 также может быть продуктом активации комплемента в клубочке. Нелизированные депозиты погружаются в базальную мембрану. Это осуществляется за счет lamina rara externa и ламинина.

В результате восстанавливается экспрессия α3-интегриновых рецепторов, что способствует восстановлению нормальной адгезии подоцитов к гломерулярной базальной мембране [7].

Самое благоприятное состояние подоцитов наблюдается при «иммунонегативном» типе ОПГН. Подоциты не изменены, не гипертрофированы, ножковые отростки сохранены, т. е. их функция совершенно сохранна, они фагоцитируют иммунные комплексы, если те попадают в клубочки, очень быстро. Процесс фагоцитоза при этом типе ОПГН хорошо работает у всех типов клеток в клубочке (мезангиальные клетки, нейтрофилы, макрофаги).

Таким образом, и на электронном уровне имеются четкие различия между типами ОПГН.

С целью выяснения связи всех исследуемых показателей в почечной ткани на протеинурию и артериальное давление (АД) на момент выписки больного из стационара был проведен непараметрический корреляционный анализ по Kendall (табл. 7).

Таблица 7

Связь между иммуногистохимическими показателями ткани клубочка и протеинурией

Коррелируемые показатели	τ	p
IgA в мезангии — протеинурия	0,62	<0,01
IgM в мезангии — протеинурия	0,51	<0,02
IgG в мезангии — протеинурия	0,54	<0,01
Фибрин капиллярной петли — протеинурия	0,52	<0,002
CD71 — протеинурия	0,46	<0,02
CD25 — протеинурия	0,45	<0,05
TdT — протеинурия	–0,56	<0,006
S-фаза — протеинурия	0,52	<0,002
Апоптоз — протеинурия	–0,51	<0,05

Из данных, представленных в табл. 7, следует, что отложения IgA, M, G в мезангиальном матриксе влияют на протеинурию в активной стадии заболевания, которая подтверждается и отложениями фибриногена по капиллярным петлям, отражая остроту процесса. Присутствие в клубочке клеток фенотипа CD71 и CD25 также свидетельствует об активности процесса заболевания. Напротив, механизм апоптоза имеет обратную связь с протеинурией, так же как и присутствие в клубочках TdT+-лимфоидных элементов. Механизм апоптоза направлен на очищение клубочка, значит на выздоровление, так же как и TdT+-клетка, которая отвечает за процессы физиологической регенерации. Если в период остроты заболевания не работают эти два механизма, то процесс выздоровления затягивается и может способствовать хронизации заболевания.

В табл. 8 приведены данные по корреляционной связи между исследуемыми показателями в интерстиции и в эпителии канальцев с протеинурией. Из приведенных данных видно,

Таблица 8

Связь между иммуногистохимическими показателями в интерстициальной ткани, эпителии канальцев и протеинурией

Коррелируемые показатели	τ	p
CD71 — протеинурия	0,49	<0,023
HLA-DR-DP-DQ/CD 8 — протеинурия	0, 61	<0,016
IL-6 — протеинурия	0,48	<0,04

что развитию протеинурии способствует присутствие ранних быстро пролиферирующих клеток, несущих на своей мембране рецепторы к трансферрину и секретирующие IL-6, а также клетки супрессорного фенотипа с мембранным антигеном DP-DQ локуса DR системы HLA, стимулированные персистирующим экзогенным антигеном. Присутствие этих клеток и IL-6 в интерстиции оказывает влияние на развитие протеинурии и отражает активность процесса в данный момент времени.

Следующим этапом работы было исследование взаимосвязи иммунологических показателей в клубочке с артериальным давлением (отдельно систолическим и диастолическим). В табл. 9 представлены корреляционные связи с систолическим АД (АДс).

Выявлено влияние отложений IgA, M, G и фибриногена по капиллярным петлям на повышение систолического АД. Сдавление капиллярных петель приводит к первоначальному

Таблица 9

Связь между иммуногистохимическими показателями ткани клубочка и уровнем систолического АД (АДс)

Коррелируемые показатели	τ	p
IgA капиллярной петли — АДс	0,52	<0,02
IgM капиллярной петли — АДс	0,44	<0,02
IgG капиллярной петли — АДс	0,49	<0,01
Фибриноген капиллярной петли — АДс	0,46	<0,01
CD71 — АДс	0,41	<0,05
TdT — АДс	0,62	<0,01

развитию внутриклубочковой гипертензии, а далее к повышению систолического АД, что и отражает активность заболевания.

Влияние мононуклеаров фенотипа CD71, так же как и Ig и фибриногена, отражает активность процесса, т. е. воздействует на повышение АДс через поражение структуры клубочка и выработку IL-6.

Выявлена отрицательная корреляционная связь между присутствующими в клубочке ранними лимфоидными элементами, обладающими трофической функцией — TdT+-клетками и АДс. Это имеет свое объяснение, так как TdT+-клетки, присутствуя в клубочке, пытаются поддержать физиологическую регенерацию ткани и восстановить структурные изменения со стороны клубочка, происходящие в остром периоде заболевания.

В табл. 10 приведены данные по исследованию связи иммунных показателей в интерстициальном пространстве с развитием систолического АД.

Таблица 10

Связь между иммуногистохимическими показателями интерстициальной ткани и АДс

Коррелируемые показатели	τ	p
IgA —АДс	0,58	<0,01
IgG — АДс	0,44	<0,05
Фибриноген — АДс	0,56	<0,016
IL-6 — АДс	0,48	<0,01

Полученные результаты по влиянию IgA, IgG, фибриногена и IL-6 на повышение систолического АД также свидетельствуют об активном процессе заболевания, что проявляется повышением давления.

В табл. 11 приведены результаты о влиянии отложений IgG и IgM по эпителию канальцев на повышение систолического АД. Возможно, это связано с механическим сдавлением канальцев и близлежащих сосудов.

Таблица 11

Связь между иммуногистохимическими показателями эпителия канальцев и АДс

Коррелируемые показатели	τ	p
IgG — АДс	0,46	<0,01
IgM — АДс	0,52	<0,01

Далее нами была исследована зависимость между иммуногистохимическими показателями ткани клубочков и повышением диастолического АД (табл. 12).

Из данных таблицы видно, что имеется четкая зависимость между отложениями всех классов иммуноглобулинов (IgA, M, G), фибриногена по капиллярным петлям клубочка и уровнем диастолического АД (АДд), что может быть отражением активности процесса и приводит к внутриклубочковой гипертензии. Также об активности заболевания свидетельствует связь между клетками фенотипа CD71 и CD25, которые участвуют в поражении ткани и выработке интерлейкинов, с повышением диастолического давления.

Таблица 12

Связь между иммуногистохимическими показателями ткани клубочка и диастолическим АД (АДд)

Коррелируемые показатели	τ	p
IgA — АДд	0,52	<0,01
IgM — АДд	0,35	<0,05
IgG — АДд	0,40	<0,02
Фибриноген капиллярной петли — АДд	0,50	<0,01
CD71 — АДд	0,48	<0,02
CD25 — АДд	0,52	<0,01

Практически аналогичные данные получены и при исследовании влияния иммунологических показателей в интерстиции и в эпителии канальцев на повышение диастолического АД (табл. 13, 14).

Полученные результаты по влиянию отложений иммуноглобулинов M, G и фибриногена в эпителии канальцев на повышение диастолического АД показывают, что оно может быть связано как с активностью процесса, так и с

Таблица 13

Связь между иммуногистохимическими показателями интерстициальной ткани и АДд

Коррелируемые показатели	τ	p
IgA — АДд	0,46	<0,01
IgM — АДд	0,47	<0,01
IgG — АДд	0,40	<0,05
Фибриноген — АДд	0,44	<0,01
CD71 — АДд	0,42	<0,02
IL-6 — АДд	0,46	<0.01

Таблица 14

Связь между иммуногистохимическими показателями в эпителии канальцев и АДд

Коррелируемые показатели	τ	p
IgA — АДд	0,48	<0,01
IgG — АДд	0,46	<0,05
Фибриноген — АДд	0,50	<0,01
CD8 — АДд	0,49	<0,01
CD71 — АДд	0,46	<0,01
CD25 — АДд	0,40	<0,05

механическим сдавливанием канальцев и близлежащих сосудов. Расположенные по эпителию канальцев мононуклеары фенотипов CD8, CD71, CD25 оказывают влияние на повышение АДд, так как участвуют в поражении структуры канальцев, которые в метаболическом отношении наиболее активны.

Данные, полученные по изучению иммунологических показателей в интерстициальном пространстве, указывают на влияние IgA, M, G и фибриногена, а также присутствие клеток с маркером CD71, секретирующих IL-6, и самого IL-6 в интерстиции на повышение АДд в период остроты процесса.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, при изучении биоптатов почек больных с ОПГН выявлено наличие 4 типов по данным иммунофлюоресцентного исследования. Кроме описанных ранее трех типов, отмечена группа лиц с отсутствием отложений иммуноглобулинов. Мы сочли возможным назвать их «иммунонегативный» тип. Детальная разработка типа «звездное небо» нами не проводилась в виду малого количества больных (2 человека).

Приведенные данные позволяют обсуждать механизм развития ОПГН. Провоцирующим фактором во всех случаях является какая-либо инфекция. Под влиянием экзогенного антигена происходит формирование иммунных комплексов в периферической крови, которые частично реутилизируются нейтрофилами, а оставшиеся попадают через кровоток в почечную ткань, где и оседают как в клубочке, так и в интерстиции. От характера их локализации и от интенсивности протекающей иммуновоспалительной реакции, от активности пролиферации и апоптоза, состояния фагоцитоза иммунных комплексов мезангиальными клетками, подоцитами, нейтрофилами и макрофагами развиваются четыре различных типа ОПГН.

У больных, имеющих отложения иммуноглобулинов по типу «звездное небо», и у пациентов с «иммунонегативным» вариантом ОПГН через 12 и 24 мес от начала заболевания протеинурия отсутствовала. Для объяснения указанных различий в течении и исходах заболевания нами проанализированы отложения Ig A, M, G, фибриногена, состав лимфоидной инфильтрации, отложения цитокинов, гломерулярная и интерстициальная пролиферация и апоптоз.

При сравнительном анализе этих показателей в биоптате почки стало очевидно, что самый неблагоприятный процесс поражения почечной ткани протекает в группе больных с «гирляндным» типом ОПГН. Как в клубочке, так и в интерстиции присутствует лимфоидный инфильтрат, наиболее богатый в интерстиции. Обращает внимание присутствие клеток супрессорного фенотипа CD8 с мембранным антигеном DP-DQ локуса DR системы HLA, что свидетельствует о постоянной активации CD8 персистирующим экзогенным антигеном, который не утилизируется в составе иммунных комплексов как в клубочке, так и в интерстиции, т. е. система фагоцитоза не работает в ткани, а соответственно, до момента попадания в ткань, не работает в периферическом русле. Также при этом типе мононуклеары в составе инфильтрата активно синтезируют цитокины во внеклеточное пространство, которые запускают клеточную пролиферацию, но оставаясь до конца не востребованными, по-видимому, из-за избыточной секреции откладываются в ткани. Учитывая выраженные изменения в клубочке и в интерстиции, это приводит к вторичному более интенсивному отложению иммуноглобулинов, которые формируют крупные гранулы и гирлянды, характерные для «гирляндного» типа.

Таким образом, можно говорить о том, что «гирляндный» тип предопределен выраженным поражением интерстиция и клубочка, что в конечном итоге и приводит к более плохому прогнозу заболевания. Характерно, что апоптоз при этом типе ОПГН достаточно активен в интерстиции, что приводит к гибели интерстиция, развитию фиброза и поражению канальцев. В клубочке система очищения и восстановления посредством апоптоза не работает, что подтверждается присутствием лимфоидного инфильтрата и высокой пролиферативной активностью гломерулярных клеток в S-фазе.

При «мезангиальном» типе как в клубочках, так и интерстиции выявлено практически отсутствие мононуклеаров, т. е. можно говорить о пустом инфильтрате, и очень незначительное присутствие цитокинов (IL-10, IL-8). При этом в клубочке пролиферация гломерулярных клеток находится в пределах физиологической нормы, а апоптоз крайне активен, что и приводит к очищению и восстановлению структуры клубочка. В интерстициальной ткани — клеточная пролиферация в пределах нормы, активации апоптоза не выявлено. Все это вместе взятое предопределяет очень умеренное поражение почечной ткани, в результате чего Ig откладываются в мезангиальном матриксе в незначительном количестве, где и фагоцитируются мезангиальными клетками, нейтрофилами. Отсюда и благоприятный прогноз при этой форме заболевания.

Однако наиболее благоприятно протекает ОПГН при «иммунонегативном» типе, что определяется минимальным поражением почечной ткани. В частности, отсутствуют лимфоид-

ный инфильтрат и цитокины в клубочке и в интерстиции, пролиферация клеток нефрона находится в пределах физиологической нормы. В клубочке процесс апоптоза протекает активно, быстро очищая его. Все это вместе взятое предопределяет отсутствие иммуноглобулинов в почечной паренхиме. Если же иммунные комплексы появляются в ткани, то они активно удаляются путем фагоцитоза мезангиальными клетками, подоцитами и макрофагами. В данном случае мезангиальные клетки полностью выполняют функцию фагоцитоза, так как их пролиферация — в пределах «физиологической нормы», а «лишние» клетки сразу очищаются через апоптоз. Поэтому этот вариант — наиболее благоприятный по течению и исходу.

Данные, полученные при электронной микроскопии, подтвердили наши исследования, выявленные методом иммунофлюоресцентного анализа. Все типы ОПГН резко отличаются друг от друга по функциональному состоянию подоцита.

При «гирляндном» типе подоцит практически не работает из-за отрыва ножковых отростков от базальной мембраны и потери экспрессии α3β1-интегриновых рецепторов на ножковых отростках, более того, они все «слиты» и деформированы. Отделение подоцитов всегда является ответом на очень сильное повреждение. При патологии повреждается более чем одна клетка, но при этом соседние подоциты не способны закрыть обнаженную поверхность базальной мембраны, так как подоцит не обладает способностью к делению. Обнаженные поля базальной мембраны могут персистировать, обуславливая тяжесть протеинурии, так же как дальнейшие связанные с отделением подоцитов от базальной мембраны повреждения [5, 6].

Связь подоцитов с базальной мембраной осуществляется преимущественно за счет α3β1-интегриновых рецепторов, тем не менее не ясно, является ли эта связь единственным механизмом прикрепления подоцитов. Она не разрушается под воздействием этилендиаминтриуксусной кислоты, хотя известно, что интегриновая связь зависит от содержания ионов кальция. Также не влияет на интегриновую связь и специфический белок RDGS, разрушающий связи фибронектина и других лиганд in vitro [7]. Возможно, что интегриновые связи — не единственный фактор стабилизации подоцита с базальной мембраной [8].

При «мезангиальном» типе наблюдается гипертрофия подоцитов, что является ответом клетки при структурных повреждениях. Клеточная гипертрофия — результат увеличения нагрузки гиперфильтрацией. Изменения ножковых отростков носят адаптивный характер. Так же и адаптивная гипертрофия развивается в условиях увеличения механической нагрузки, в результате увеличивается сила сцепления подоцитов с базальной мембраной.

Способность подоцитов к фагоцитозу служит для очищения мембраны подоцита и гломерулярной базальной мембраны [5].

«Иммунонегативный» тип ОПГН является самым благоприятным для прогноза заболевания и этому соответствует состояние подоцитов. Они не изменены, не гипертрофированы, ножковые отростки сохранены, т. е. подоциты покрывают базальную мембрану, активно участвуют в фагоцитозе без признаков гипертрофии. В этом большую роль играют мезангиальные клетки, так как они не пролиферируют из-за отсутствия пусковых факторов — цитокинов и лимфоидной инфильтрации.

Все приведенные данные свидетельствуют о необходимости иммунофлюоресцентной диагностики ОПГН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сопоставляя данные этих исследований с клинико-лабораторными изменениями, мы подтвердили мнение о более тяжелом исходе при «гирляндном» типе. Это подтверждалось наличием более высокой протеинурии к моменту выписки из стационара и более высоким АД. Пытаясь объяснить механизмы этого явления, мы провели сопоставление методом иммунофлюоресцентного анализа лимфоидного инфильтрата, цитокинов, иммуноглобулинов, фибриногена, клеточной пролиферации и апоптоза при каждом типе ОПГН и нашли соответствующие зависимости, которые позволяют утверждать, что иммунофлюоресцентные типы ОПГН отражают глубинные истинные иммунологические изменения в почке.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Иллек Я.Ю., Бахиев Х.Б., Эмирова А.А. Особенности этиологии и клиники первичного гломерулонефрита у детей // Мед. журн. Узбекистана.—1991.—№ 1.—С. 31–32.

2. Пальцев М.А., Иванов А.А. Возможные механизмы развития гломерулосклероза при нефропатиях различного генеза // Арх. пат.—1994.—№ 6.—С. 13–16.

3. Романенко А.М., Божко Е.Г., Колесник Н.А. Прогнозирование течения острого гломерулонефрита на основании иммунофлюоресцентного и электронно-микроскопического анализа // Люминесцентный анализ в медико-биологических исследованиях. Сб. науч. статей.—Рига, 1986.—С. 231–234.

4. Рябов С.И., Ракитянская И.А. Роль мононуклеаров в поражении нефрона у больных хроническим гломерулонефритом // Нефрология.—1997.—Т. 1, № 2.—С. 45–52.

5. Титова В.А. Роль подоцитов в развитии гломерулосклероза // Нефрология.—1999.—Т. 3, № 2.—С. 7–19.

6. Elger M., Kriz W. Podocytes and the development of segmental glomerulonephritis // Nephrol. Dial. Transplant.—1998.—Vol. 13, № 6.—P. 1368–1373.

7. Mundel P., Kriz W. Structure and function of podocytes: an update //Anat. Embryol. (Berl.).—1995. Vol. 192, № 5.—P. 385–397.

8. Mundel P., Peiser J., Kriz W. Induction of differentiation in culture of rat and human podocytes // J. Amer. Soc. Nephrol.—1997.—Vol. 8, № 5.—P. 697–705.

9. Pascual M., Steiner G., Sadallan S. et al. Identification of membrane-bound CR1 (CD35) in human urine: evidence for its release by glomerular podocytes // J. Exp. Med., 1994.—Vol. 179, № 3.—P. 889–899.

10. Rodriguez- Iturbe B. Clinical Nephrology // Oxford University Press, 1998.—Vol. 1.—P. 613–524.

11. Sorger K., Gesker M., Hubner E.K. et al. Subtypes of postinfection glomerulonephritis: Synopsis of clinical and pathological features // Clin. Nephrol., 1982.—Vol. 17.—P. 114–128.

Поступила в редакцию 18.09.99 г.