

СИПОВСКИЙ В. Г., ТИТОВА В. А.,
СИПОВСКАЯ Е. Б., ЗВЕРЬКОВ Р. В.,
СМИРНОВ А. В.

Анализ стромально-сосудистых маркеров тубулоинтерстиция у больных с IgA-нефропатией

*Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, 197000, ул. Льва Толстого д. 17, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: sipovski@mail.ru*

Реферат

Целью работы было исследование состояния и взаимосвязей элементов стромально-сосудистого компартмента тубулоинтерстиция (ТИН) почек при IgA-нефропатии посредством анализа клинико-морфологических маркеров, в том числе коэффициента обструкции внутриорганных артерий. В исследуемую группу вошли 15 пациентов с подтвержденным морфологически диагнозом IgA-нефропатии. У всех пациентов были выполнены лабораторные и патоморфологические исследования, включая иммуногистохимическое (α -SMA, CD31, PCNA, TGF β -1) и количественную/полуколичественную оценку патогистологических изменений: атрофии канальцев (АК), очагового склероза (ОС), периваскулярного склероза, склерозированных клубочков (СК), коэффициента обструкции (КО) артерий диаметром более 100 мкм. Уровень сывороточного креатинина имел обратную отрицательную корреляционную зависимость с КО ($r=-0,83$, $p<0,05$) и положительную с периваскулярным склерозом ($r=0,64$, $p<0,05$). Корреляционный анализ значений CD 31 «+» и SMA среди больных IgAN удостоверил статистически достоверную положительную зависимость этих морфометрических показателей ($r=0,53$, $p<0,05$). Это подтверждается также корреляционным анализом значений SMA и TGF β ($r=0,71$, $p<0,05$) между собой, а также с АК ($r=0,77$, $p<0,05$) и ОС ($r=0,77$, $p<0,05$). Полученные результаты свидетельствуют, что фибротические процессы в ТИН при IgAN патогенетически могут быть обусловлены не только основным иммунокомплексным процессом, но и изменениями структуры сосудов, а соответственно, и гемодинамикой паренхимы почек.

Ключевые слова: IgA-нефропатия, стромально-сосудистые маркеры, иммуногистохимия, морфометрия артерий.

Введение

IgA-нефропатия (IgAN) является одной из самых распространенных форм гломерулонефритов, частой причиной терминальной почечной недостаточности, так как через 20–25 лет течения заболевания появляется необходимость проведения заместительной почечной терапии у 15–40 % заболевших [4, 16]. В прогрессировании хронических нефропатий, в том числе IgAN, тубуло-интерстициальный (ТИН) фиброз имеет ведущее значение [8, 9]. Одним из механизмов прогрессии склероза ТИН является гемодинамический фактор, который большинство авторов связывают с состоянием перитубулярных капилляров [13] и практически не рассматривают при этом состояние более крупных сосудов, например, внутриорганных артерий разного калибра, за исключением ряда работ [3, 5]. В связи с этим целью работы было исследование состояния и взаимосвязей элементов стромально-сосудистого компартмента тубулоинтерстиция (ТИН) почек при IgA-нефропатии посредством анализа клинико-морфологических маркеров, в том числе индекса обструкции внутриорганных артерий.

Материал и методы исследования

В исследуемую группу вошли 15 пациентов, мужчин — 7, женщин — 8 (средний возраст — $31,73 \pm 11,46$ года). Больные пурпурой Шенляйн–Геноха, системной красной волчанкой (СКВ) и HNV/НВС-ассоциированными гломерулонефритами не были включены в исследование. Все пациенты имели подтвержденный морфологически диагноз IgA-нефропатии (IgAN), классифицированный в соответствии с Oxford Classification 2009.

У всех пациентов были выполнены стандартные лабораторные и инструментальные исследования: артериальное давление (АД), общий белок (ОБ) сыворотки крови, г/л; альбумин сыворотки крови (АСК), г/л; креатинин сыворотки крови (Cr), ммоль/л; суточная потеря белка, г/сут.

Для патогистологического исследования фрагменты почечной паренхимы фиксировались незамедлительно после получения пункционных образцов ткани в 4 %-м параформальдегиде на фосфатном буфере, pH 7,4, в течение 24 ч, при комнатной температуре. После стандартной обработки тканевых фрагментов (обезвоживание, пропитка, заливка) из парафино-

вых блоков были приготовлены 3–4 мкм серийные срезы. Препараты окрашивались гематоксилином и эозином, реактивом Шиффа (PAS), трихромальной окраской (Masson), по Джонсу, по Вейгерту (Veigert), конго красным.

Иммунофлуоресцентное исследование (прямая флуоресценция) осуществлялась на криостатных срезах с использованием FITC-меченых антител, производство DAKO (Дания). Во всех биопсиях анализировалась депозиция в структурах нефрона IgA, IgM, IgG, C3c, C1q, фибриногена, каппа- и лямбда-легких цепей.

Для ультраструктурного анализа биоптаты почек после стандартной обработки ультратонкие срезы анализировались в трансмиссионном микроскопе Jeol-7A (Япония). Иммуногистохимические реакции проводились на парафиновых срезах толщиной 4 мкм. После депарафинизации, регидратации, необходимой высокотемпературной демаскиции ингибирование эндогенной пероксидазы проводилось в 3 %-м растворе H_2O_2 на метаноле. Поликлональные и моноклональные антитела к α -SMA (Dako, клон 1A4 Дания), CD31 (PECAM-1(M20)-Santa-Cruz, США), PCNA (Santa-Cruz, США), TGF β -1 (Santa-Cruz, США) были применены в качестве иммуноморфологических маркеров стромально-сосудистых компонентов ТИН. Фосфатно-солевой буфер (PBS) был использован как отрицательный контроль для замены первичного антитела. Срезы инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. Анти-мышиную и антикроличью полимерные системы детекции EnVision (DAKO, Дания) использовали для визуализации эпитопов. В качестве визуализирующей хромогенной метки применяли диаминобензидиновую реакцию (DAKO, Дания). Исследования проводились на базе НИЛ клинической иммунологии и морфологии НИИ нефрологии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.

Изучение патоморфологических изменений проводилось на светооптическом микроскопе Carl Zeiss Imager Z 2 (Германия) количественным и полуколичественными методиками.

Анализ патогистологических изменений, в частности, атрофии канальцев (АК), очагового склероза (ОС), периваскулярного склероза (ПС), склерозированных клубочков проводился полуколичественно. И в зависимости от степени выраженности патологического процесса ранжировался следующим образом: 0 — отсутствие, 1 — до 25 % объема паренхимы, 2 — до 50 % объема паренхимы, 3 — более 50 % объема паренхимы. Склероз клубочков (СК) определялся как % склерозированных клубочков от общего числа клубочков в исследованных срезах. При необходимости определялось среднее значение критерия (М) и ошибка средней (m) в группе.

Артерии диаметром более 100 мкм анализировались посредством определения коэффициента обструкции (КО) — деления длины внутреннего диаметра сосуда до субэндотелиальной базальной мембраны на внешний диаметр сосуда до внешней границы средней оболочки (рис. 1). Для оценки активности миофибробластов проводился подсчет

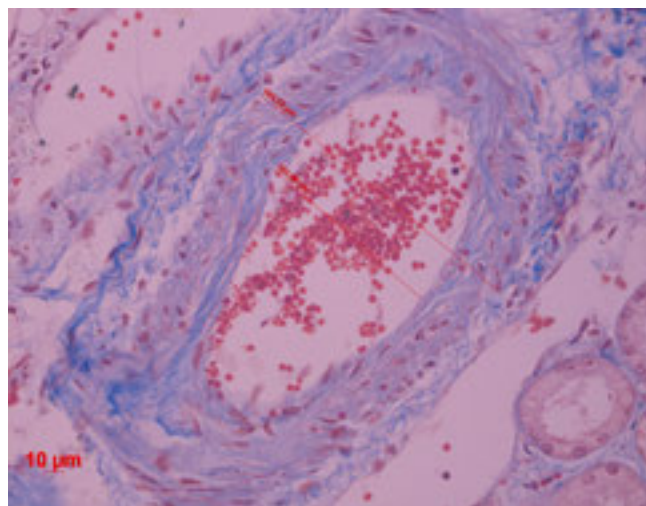


Рис. 1. Методика измерения просвета внутреннего и внешнего диаметра артерии

SMA-позитивных клеток в 10 полях зрения при увеличении объектива 20 в ТИН. CD31 анализировался в эндотелии микрососудов коры почечной паренхимы каждого микропрепарата для анализа плотности микроциркуляторного русла (МЦР) [6], в 20 неперекрывающихся полях зрения на увеличении 40 с использованием 100-точечного счета на каждое поле зрения. Ключевой медиатор прогрессирования почечного фиброза [10, 22] — TGF β -1 подсчитывался в виде % позитивных клеток от общего объема тубулярного эпителия. PCNA-пролиферативный клеточно-нуклеарный антиген как критерий активности тубулярного эпителия оценивался в виде % клеток с позитивным продуктом реакции посредством аналогичной методики с использованием 100-точечного счета на каждом поле зрения.

Во всех иммуноморфологических исследованиях исключались из счета клубочки и артерии. Статистическую обработку полученных данных проводили с применением стандартных пакетов программ прикладного статистического анализа («Statistica 8.0 for Windows»). Использовались стандартные методы параметрической и непараметрической статистики. Данные в табл. 1; 2 представлены в виде среднего значения с ошибкой средней ($M \pm m$), медианы и межквартильного размаха. Корреляционный анализ осуществлялся посредством Spearman Rank order Correlations с вычислением коэффициента R при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Клинико-лабораторные данные. Основные клинико-лабораторные показатели приведены в табл. 1.

В группах больных IgA-нефропатии соотношение мужчин и женщин было примерно одинаковое. Средний возраст в группе составил $31,73 \pm 11,46$ года. В целом клинико-лабораторные показатели соответствовали общеизвестным лабораторным критериям IgAN [2].

Светооптическое и иммуноморфологическое исследование. При светооптическом исследовании выявлялись уже признанные «классическими» патоморфологические признаки IgAN: мезангиальная

Результаты основных клинико-лабораторных параметров в группе больных с IgA-нефропатией

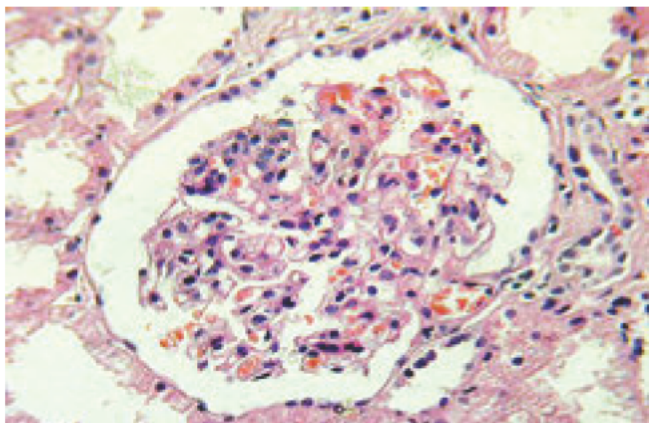
Таблица 1

Показатель	Пол, м/ж	Возраст (M±m)	АДсист./ АДдиаст.	Общий белок сыворотки крови (65–85 г/л)	Альбумин сыворотки крови (40–50 г/л)	Креатинин (до 0,104 ммоль/л)	Суточная потеря белка (50–100 мг/сут.)
IgAN (n=15)	7/8	31,73±11,46	150,00/90,00 (110,0–200,0)/ (70,00–110,00)	60,00 (52,00–69,002)	37,00 (31,00–39,00)	0,11 (0,09–0,2)	5,00 (1,10–6,04)

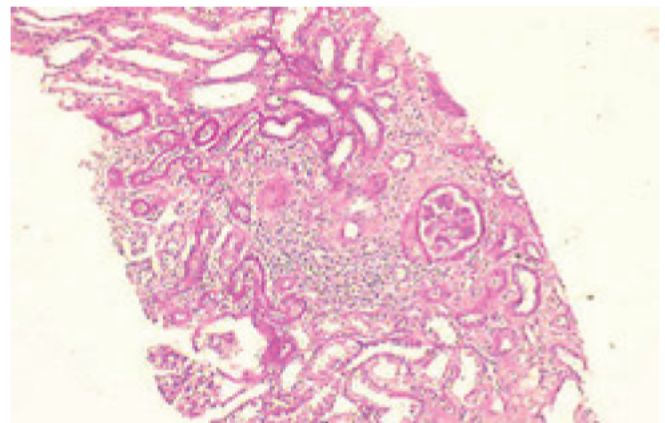
Результаты патоморфологических стромально-сосудистых параметров в группе больных с IgA-нефропатией

Таблица 2

Показатель	IgN (n=15) (M±m)
Склероз клубочков	0,20±0,15
Атрофия канальцев	1,6±0,73
Очаговый склероз	1,6±0,73
Периваскулярный склероз	1,33±0,72
КО	0,468±0,21

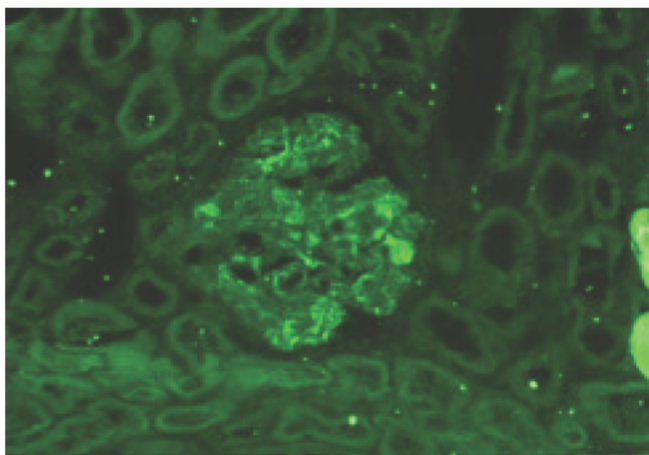


а

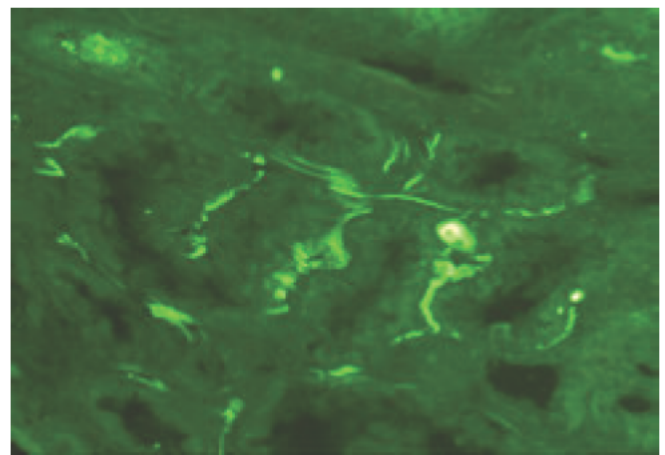


б

Рис. 2. Глобальная гиперклеточность (а), окраска гематоксилином и эозином. Очаговая гистио-лимфоцитарная инфильтрация в зоне интерстициального отека, склероза, атрофических изменений канальцев (б). Окраска PAS-реакция. Увеличение ×10 раз



а



б

Рис. 3. Иммунофлуоресцентные депозиты IgA умеренной степени интенсивности (++) в мезангии и частично по базальным мембранам капилляров клубочка. Прямая иммунофлуоресценция (а). Фокальные, линейные и гранулярные депозиты IgA в капиллярах интерстиция (б). Прямая иммунофлуоресценция FITC. Увеличение ×20 раз

гиперклеточность и увеличение мезангиального матрикса (рис. 2, *а*). Степень выраженности этих патоморфологических изменений варьировала как по количеству клеток в мезангии, так и по распространенности. Сегментарный гломерулосклероз чаще всего встречался в виде классического (NOS) типа с формированием синехий с капсулой Боумена. Иногда структура клубочка имела «лобулярный» рисунок. Данные значений, характеризующие состояние стромально-сосудистых показателей в группе, приведены в табл. 2. Склерозирование клубочков носило умеренный характер.

В тубулоинтерстиции (ТИН) наблюдались атрофические (атрофия эпителия канальцев) и склеротические процессы (очаговый и периваскулярный), которые имели умеренную степень выраженности, очаговую локализацию и располагались преимущественно в кортикальной зоне.

Атрофия канальцев сопровождалась уплощением эпителия, утолщением базальной мембраны и изменением их размеров (рис. 2, *б*). Обструкция или сужение просвета артерий среднего калибра (>100 мкм) сопровождалась эластофиброзом интимы с частичным истончением мышечного слоя артерий (рис. 1).

При иммунофлуоресцентном исследовании выявлялись признаки IgAN: отложение IgA, С3-фракции комплемента и легких цепей лямбда в различных структурах клубочка (рис. 3, *а*). Тубулоинтерстициальные локализации продуктов реакции могли располагаться как в просвете канальцев, в цитоплазме эпителия канальцев, так и в микрососудах ТИН (рис. 3, *б*). В почечной ткани продукт реакции на α -SMA был положительным в гладкомышечных клетках артерий и миофибробластах, располагавшихся в междубулярном интерстиции. Количество миофибробластов в зонах склероза ТИН было заметно больше по сравнению с неизмененными участками (рис. 4, *а*). Маркер эндотелия CD31, наряду с локализацией в эндотелии артерий среднего (более 100 мкм) и мелкого калибра (50–100 мкм), располагался в капиллярах клубочка и перитубулярных микрососудах (рис. 4, *б*).

Экспрессия PCNA (рис. 5, *а*) наблюдалась в значительном количестве в ядрах клеток эпителия канальцев и клубочка. TGF β -1 экспрессировался в эпителии как дистальных, так и проксимальных канальцев, преимущественно в зонах склерозирования и атрофии почечной паренхимы. Кроме этого, можно было выявить локализацию этого эпитопа в единичных клетках эпителия клубочка (рис. 5, *б*).

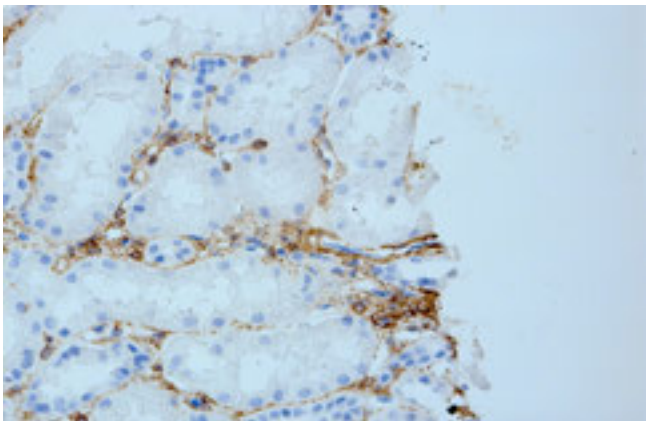
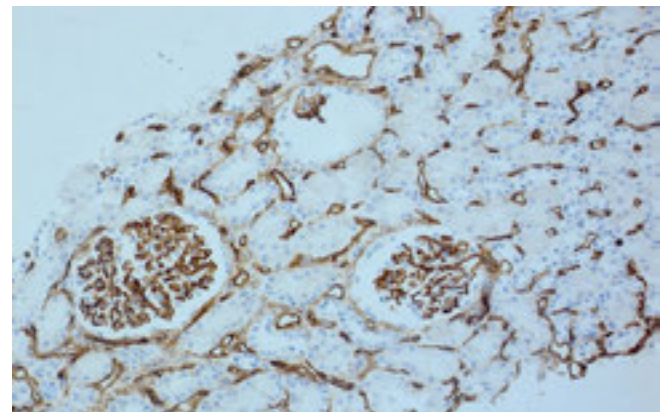
*а**б*

Рис. 4. Иммуногистохимический продукт реакции на SMA локализуется в миофибробластах и гладкомышечных клетках (*а*), а на CD31 — в эндотелии периваскулярных микрососудов ТИН и капиллярах клубочков (*б*). Увеличение $\times 40$ раз.

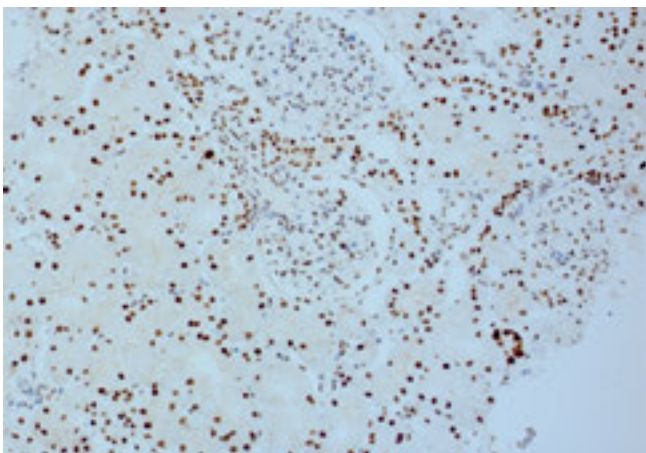
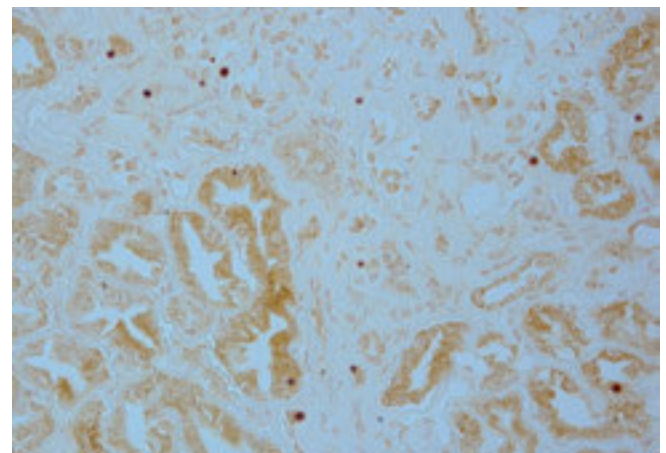
*а**б*

Рис. 5. Иммуногистохимический продукт реакции на PCNA локализуется в ядрах тубулярного эпителия и клубочка (*а*), а на TGF β — в эпителии дистальных и проксимальных канальцев (*б*). Увеличение $\times 40$ раз.

Корреляционный анализ. Степень выраженности КО артерий имела отрицательную корреляционную зависимость с АД сист. ($r=-0,73$, $p<0,05$) (рис. 6, а), причем такая же достоверная отрицательная корреляционная зависимость была и с АД

диаст. ($r=-0,80$, $p<0,05$). Одновременно уровень сывороточного креатинина имел обратную отрицательную корреляционную зависимость с КО ($r=-0,83$, $p<0,05$) (рис. 6, б) и положительную с периваскулярным склерозом ($r=0,64$, $p<0,05$).

Количественные значения CD 31 «+» перитубулярных микрососудов были связаны с уровнем Cr ($r=0,60$, $p<0,05$) (рис. 7, а) и артериальным КО

($r=-0,75$, $p<0,05$) (рис. 7, б). Корреляционный анализ значений CD 31 «+» и SMA среди больных IgAN удостоверял статистически достоверную положительную зависимость этих морфометрических показателей ($r=0,53$, $p<0,05$), характеризующую стромально-сосудистую взаимосвязь изменений в ТИН почки (рис. 8, а). Это подтверждается также корреляционным анализом значений SMA и TGF β -1 ($r=0,71$, $p<0,05$) (рис. 8, б) между собой, а также с АК ($r=0,77$, $p<0,05$) и ОС ($r=0,77$, $p<0,05$) (рис. 9, а, б). При этом положительная достоверная взаимосвязь имеется между всеми четырьмя показателями. При анализе PCNA и других структурных и лабо-

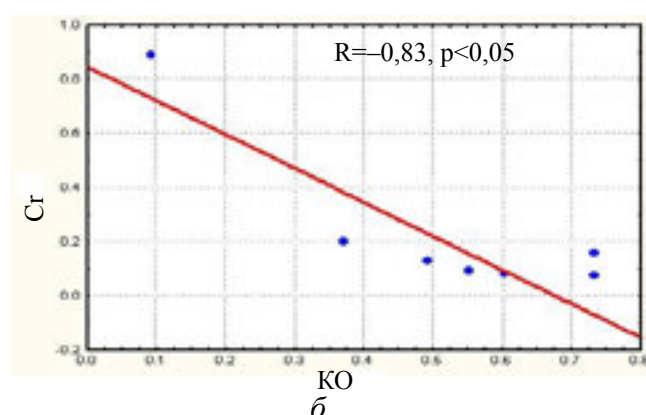
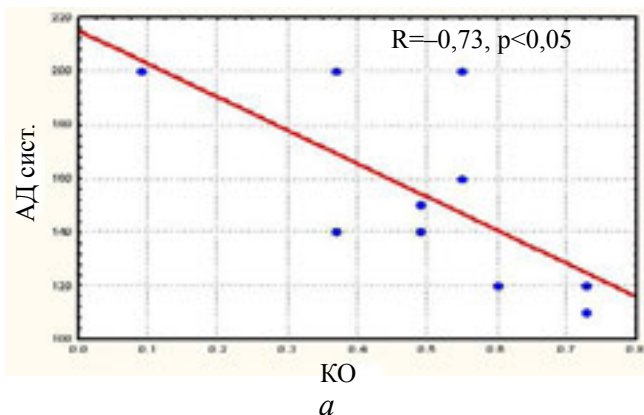


Рис. 6. Корреляция коэффициента обструкции артерий с АД сист. (а) и АД диаст. (б)

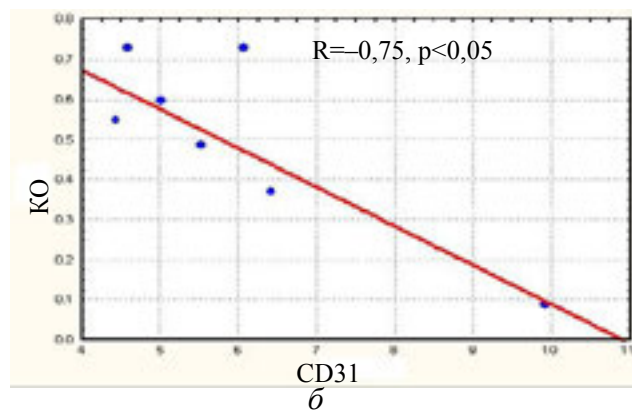
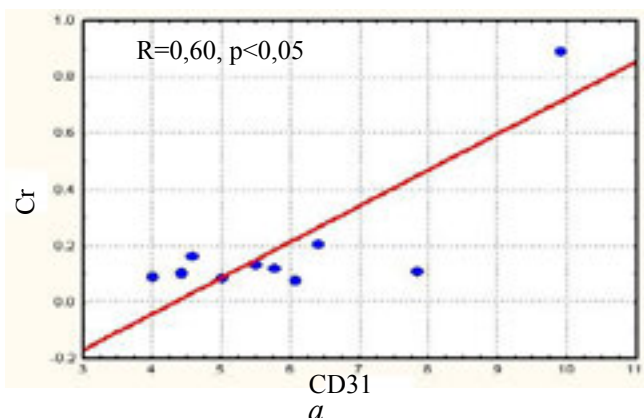


Рис. 7. Корреляция CD31 с уровнем креатинина (а) и коэффициентом обструкции (б)

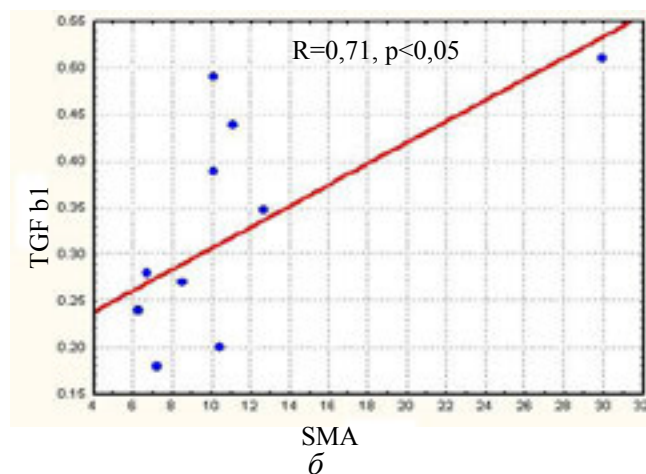
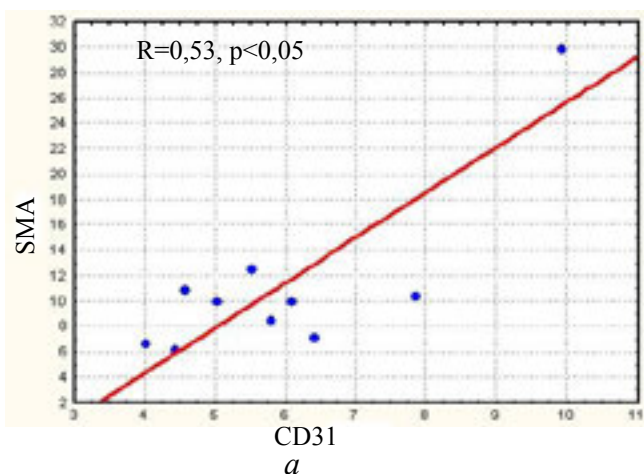


Рис. 8. Корреляция SMA с CD31 (а) и TGF β 1 (б)

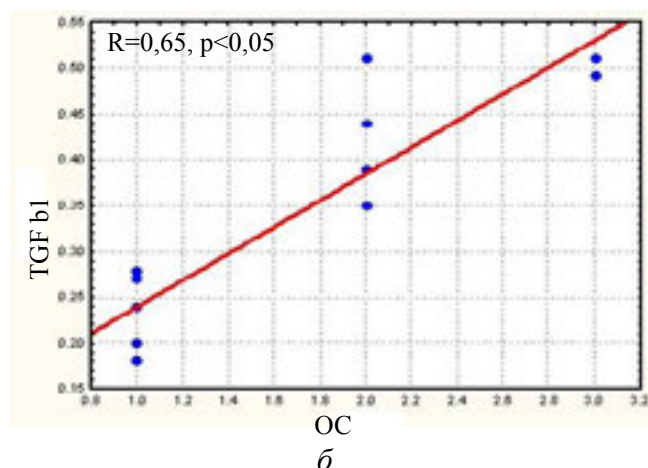
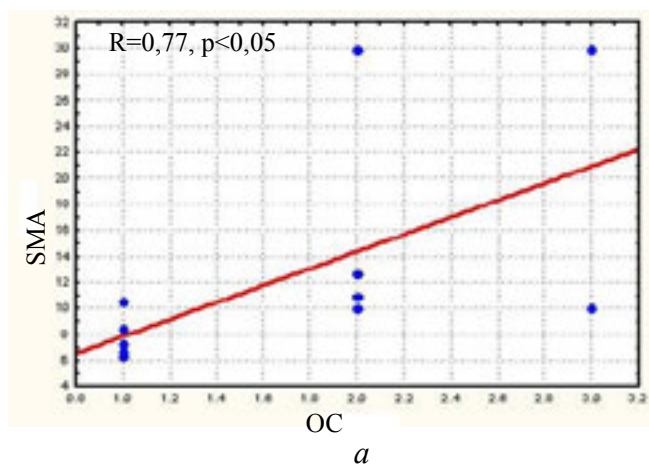


Рис. 9. Корреляция OC с SMA (а) и TGFβ1 (б)

ракторных значений достоверных корреляционных зависимостей выявлено не было.

Обсуждение результатов

К настоящему времени установлено, что клинические признаки IgAN, включающие уровень артериального давления, сывороточный креатинин и суточная потеря белка существенным образом связаны с тяжестью патоморфологических изменений паренхимы почки [2, 15, 18]. Результаты настоящего исследования совпадают с данной точкой зрения. В частности, уровень сывороточного креатинина у наших больных имел положительную корреляционную связь с выраженностью периваскулярного склероза ($r=0,64$, $p<0,05$) и при этом находился в обратной зависимости с КО (коэффициентом обструкции) (рис. 6, б). Данный коэффициент был использован нами для характеристики степени сужения просвета артерии как одной из причин ишемии почечной паренхимы и механизма прогрессии фибротических изменений [13]. Коэффициент был использован как ориентировочный аналог сосудистого индекса (СИ, разработанного В. В. Серовым и др. в 1993 г.

Несмотря на простоту метода, он оказался вполне информативным. Так, обратную корреляционную зависимость по отношению к КО, а соответственно, к периметру просвета сосуда имели уровни систолического и диастолического давления, а также сывороточный креатинин, являющийся одним из основных показателей функционального состояния почечной паренхимы. С одной стороны, это свидетельствует о том, что патоморфологические изменения сосудистой стенки артерий при IgA могут быть связаны не только с иммунокомплексным патогенезом заболевания, но и с гипертензивным синдромом, который развивается и сопровождает течение патологии, морфологически «легализуясь» в виде тромботической микроангиопатии (ТМА) [12]. С другой стороны, ввиду того, что данные изменения носят необратимый характер, их можно рассматривать как еще один из предикторов течения заболевания.

Для более полной оценки состояния сосудистого русла почечной паренхимы, кроме морфометрии достаточно крупных сосудов, был проведен анализ плотности микроциркуляторно русла ТИН. По его

результатам была выявлена достоверная положительная зависимость CD31-маркера МЦР с Сг и отрицательная зависимость с КО (рис. 7, а, б). Этот факт, на наш взгляд, свидетельствует о ремодуляции почечного кровотока, в частности, МЦР и артерий среднего калибра. При сужении магистральных артерий, по-видимому, происходит увеличение количества капилляров в ТИН, что сопровождается повышением креатинина сыворотки и, соответственно, снижением функции почки при IgAN. Это вполне объяснимо, если учитывать тот факт, что CD31 и SMA имеют, по результатам нашего исследования, прямую корреляционную зависимость и, соответственно, свидетельствует о связи активности профибротических факторов с ремодуляцией кровотока больных при IgAN. Эти данные находятся в полном контексте общих представлений о том, что почечный фиброз характеризуется деструкцией нормальной ткани с последующей ремодуляцией почечной паренхимы, характеризующейся накоплением избытка внеклеточного матрикса и соединительнотканых волокон [1, 20]. Ввиду вышеизложенного, в ТИН больных IgAN был исследован α-SMA, который является миофиламентозным актином, находящимся в цитоплазме гладкомышечных клеток сосудов, в том числе миофибробластах. Последние являются уникальной группой гладкомышечноподобных фибробластов, которые секретируют внеклеточный матрикс. Они ответственны за производство и депозицию внеклеточного матрикса почками в условиях патологии [21]. Миофибробласты являются α-SMA-позитивными и отсутствуют в нормальных почках. Высокая экспрессия α-SMA отражает количество миофибробластов и степень выраженности фиброза [7].

Таким образом, наблюдая за экспрессией α-SMA в почках, мы можем оценить степень активации миофибробластов. Как видно на рис. 4, а, экспрессия α-SMA была найдена в ТИН почек больных IgAN. Экспрессия α-SMA в группе IgAN была локализована преимущественно в зонах склерозирования ТИН. При этом, по результатам корреляционного анализа, количество α-SMA+-клеток имело прямую положительную взаимосвязь с выраженностью очагового склероза, что подтверждает общеизвестные литературные данные (рис. 8, а) [21]. Происхождение

миофибробластов при патологических состояниях остается неясным. Наиболее часто предполагается, что они дифференцируются из местных резидентных фибробластов. Недавно были получены свидетельства, что эти клетки могут также происходить из тубулярных эпителиальных клеток с помощью процесса, известного как эпителиально-мезенхимальная трансформация [14, 17].

Считается, что в ответ на повреждение тканей почек интерстициальные фибробласты и тубулярные эпителиальные клетки меняют свой фенотип и становятся α -SMA-позитивными миофибробластами и начинают синтезировать внеклеточный матрикс [19]. Разнообразные цитокины вовлечены в эту фенотипическую активацию, в которой TGF- β является основным стимулятором перитубулярного фиброза и гломерулосклероза. Уровень экспрессии TGF β 1 в образцах почечных тканей пациентов с IgA-нефропатией прямо коррелирует с развитием и прогрессированием гломерулосклероза, повреждением

тубулоинтерстиция и перитубулярным фиброзом [11, 23]. Полученные нами результаты совпадают с вышеизложенными представлениями. В частности, это подтверждается данными корреляционного анализа (рис. 9, а), где была установлена достоверная зависимость ОС и активности TGF- β 1 в нашей группе больных. При этом количество миофибробластов и активность TGF- β 1 в тубулярном эпителии были взаимосвязаны положительной корреляционной связью (рис. 8, б).

Таким образом, проведенный анализ ряда стромально-сосудистых маркеров паренхимы почки документировал ремоделирование ТИН при IgA-нефропатии и показал их взаимосвязь между собой. Кроме того, полученные результаты свидетельствуют, что фибротические процессы в ТИН при IgAN патогенетически могут быть обусловлены не только основным иммунокомплексным процессом, но и изменениями структуры сосудов, а соответственно, и гемодинамикой паренхимы почек.

Литература

1. Батюшин М. М., Пасечник Д. Г. Выявление виментина, панцитокератина, Е-Катгерина и антител к CD10 маркеров эпителиально-мезенхимального перехода при хроническом гломерулонефрите // *Нефрология*. 2014. Т. 17. № 5. С. 23–28.
2. Орлова С. А., Клемина И. К., Никогосян Ю. А. Каюков И. Г. IgA-нефропатия: клинко-морфологические параллели // *Нефрология*. 2002. Т. 6. № 4. С. 34–33.
3. Семёнов Д. В. и др. Доплерографическая оценка артериального кровотока и изменение функции почек у больных атеросклерозом почечных артерий после реваскуляризации // *Нефрология*. 2012. Т. 16. № 1. С. 45–52.
4. Сиповский В. Г., Добронравов В. А., Корунная А. В., Смирнов А. В. Клинико-морфологический анализ изменений перитубулярных микрососудов интерстиция почек у больных с IgA-нефропатией (IgAN) с оценкой активности лектинового пути системы комплемента // *Нефрология*. 2013. Т. 17. № 4. С. 32–35.
5. Шорманов И. С. Морфологические основы нарушения функции почек при расстройстве ренальной гемодинамики // *Нефрология*. 2005. Т. 10. № 1. С. 62–66.
6. Хомерики С. Г., Жуков А. Г. Морфологические особенности капиллярной сети слизистой оболочки желудка у больных с портальной гипертензией // *Архив патол.* 2011. Т. 73. № 1. С. 43–46.
7. Alexopoulos E., Gionanlis L., Papayianni E. et al. Predictors of outcome in idiopathic rapidly progressive glomerulonephritis (IRPGN) // *BMC Nephrol.* 2006. Vol. 7. P. 6.
8. Bohle A., Strutz F., Müller G. A. On the pathogenesis of chronic renal failure in primary glomerulopathies: a view from the interstitium // *Exp. Nephrol.* 1994. Vol. 2. № 4. P. 205–210.
9. Bohle A., Wehrmann M., Mackensen-Haen S. et al. Pathogenesis of chronic renal failure in primary glomerulopathies // *Nephrol. Dial. Transplant.* 1994. Suppl. 3. P. 4–12.
10. Bottinger E. P. TGF-beta in renal injury and disease // *Semin. Nephrol.* 2007. Vol. 27. P. 309–320.
11. Chihara Y., Ono H., Ishimitsu et al. Roles of TGF-beta1 and apoptosis in the progression of glomerulosclerosis in human IgA nephropathy // *Clin. Nephrol.* 2006. Vol. 65. № 6. P. 385–392.
12. El Karoui K., Hill G. S., Karras A. et al. Clinicopathologic study of thrombotic microangiopathy in IgA nephropathy // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2012. Vol. 23. № 1. P. 137–148.
13. Fine L. G., Norman J. T. Chronic hypoxia as mechanism of progression of chronic kidney disease: from hypothesis to novel therapeutics // *Rudney International*. 2008. Vol. 4. P. 867–872.
14. Galichon P., Hertig A. Epithelial to mesenchymal transition as a biomarker in renal fibrosis: are we ready for the bedside // *Fibrogenesis & Tissue repair*. 2011. Vol. 4. № 11. P. 2–7.
15. Glasscock R. J. The pathogenesis of IgA nephropathy // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2011. Vol. 20. P. 153–160.
16. Ibels L. S., Gyory A. Z. IgA nephropathy: Analysis of the natural history, important factors in the progression of renal disease and a review of the literature // *Medicine (Baltimore)*. 1994. Vol. 73. № 5. P. 79–102.
17. Kizu A., Medici D., Kalluri R. Endothelial-mesenchymal transition as a novel mechanism for generating myofibroblasts during diabetic nephropathy // *Am. J. Pathol.* 2009. Vol. 175. P. 1371–1373.
18. Li P. K., Ho K. K., Szeto C. C et al. Prognostic indicators of IgA nephropathy in the Chinese – clinical and pathological perspectives // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002. Vol. 17. P. 64–69.
19. Minz R., Bakshi A., Chhabra S. et al. Role of myofibroblasts and collagen type IV in patients of IgA nephropathy as markers of renal dysfunction // *Indian J. Nephrol.* 2010. Vol. 20. № 1. P. 34–39.
20. Peng Sheng-Nan, Zeng Hui-Hong, Zhu Qing-Xian. Protection of rhein on IgA nephropathy mediated by inhibition of fibronectin expression in rats // *Indian J. Pharmacol.* 2013. Vol. 45. № 2. P. 174–179.
21. Strutz F., Zeisberg M. Renal fibroblasts and myofibroblasts in chronic kidney disease // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006. Vol. 17. P. 2992–2998.
22. Wang W., Koka V., Lan H. Y. Transforming growth factor-beta and Smad signalling in kidney diseases // *Nephrology (Carlton)*. 2005. Vol. 10. № 1. P. 48–56.
23. Wei Wu, Xiao-Yun Jiang, Qiao-Ling Zhang et al. Expression and significance of TGF- β 1/Smad signaling pathway in children with IgA nephropathy // *World Journal of Pediatrics*. 2009. Vol. 5. № 3. P. 211–215.

UDK [616.61-002.17:616.153.962]:575.17

Sipovskii V. G., Titova V. A., Sipovskaya E. B., Zverkov R. V., Smirnov A. V.**Analysis of stromal-vascular markers of tubulointerstitium in patients with IgA-nephropathy****Research Institute of Nephrology, First St. Petersburg State Medical University I. P. Pavlov, 197000, Lva Tolstogo str. 17, St. Petersburg, Russia
e-mail: sipovski@mail.ru****Abstract**

The aim of this study was to investigate the status and relationships the elements of stromal-vascular tubulointerstitial compartment (TIN) of the kidneys under IgA-nephropathy by analyzing clinical and morphological markers, including factor coefficient obstruction of the arteries. The study included 15 patients with confirmed morphologically diagnosis of IgA-nephropathy (IgAN). All patients were performed laboratory and pathological studies, including immunohistochemistry (α -SMA, CD31, PCNA, TGF β -1) and quantitative/semi-quantitative assessment of pathohistopathological changes: atrophy of tubules (AT), local sclerosis (LS), perivascular sclerosis, sclerosed glomeruli (SG), the coefficient of obstruction (CO) arteries with a diameter greater than 100 microns. Serum creatinine was inversely negative correlation with CO ($r=-0,83$, $p<0,05$), and positive perivascular sclerosis ($r=0,64$, $p<0,05$). Correlation analysis of the values of CD 31 «+» and SMA in patients IgAN certified statistically significant positive correlation of morphometric parameters ($r=0,53$, $p<0,05$). This is confirmed by the same values and correlation analysis SMA and TGF β ($r=0,71$, $p<0,05$) among themselves, as well as with the AT ($r=0,77$, $p<0,05$) and LS ($r=0,77$, $p<0,05$). The results indicate that the fibrotic processes in TIN under IgAN may be due not only to immune complex processes, but only to the changes in the structure of arteries, and thus the hemodynamic changes into the renal parenchyma.

Keywords: IgA-nephropathy, stromal and vascular markers, immunohistochemistry, morphometry of arteries.

References

1. Batjushin M.M., Pasechnik D.G. Vyjavlenie vimentina, pancitokeratina, E-Katgerina i antitel k CD10 markerov jepitelial'no-mezenhimal'nogo perehoda pri hronicheskom glomerulnefrite. [Identification of vimentin, pan-cytokeratin, E-catgerin and antibodies to Cd10 markers of epithelial-mesenchymal transition in chronic glomerulonephritis] // *Nefrologija*. [Nephrology]. 2014. V.17. N 5. P. 23-28. [In Russian].
2. Orlova S.A., Klemina I.K., Nikogosjan Ju.A., Kajukov I.G. IgA nefropatija: kliniko-morfologicheskie paralleli. [IgA nephropathy: clinical-morphological parallels] // *Nefrologija*. [Nephrology]. 2002. V.6. N 4. P. 34-33. [In Russian].
3. Semenov D.V. et al. Doplerograficheskaja ocenka arterial'nogo krovotoka i izmenenie funkcii pochek u bol'nyh aterosklerozom pochechnyh arterij posle revaskularizacii. [A Doppler assessment of an arterial bloodflow and function of kidneys changings in patients with renal arteries atherosclerosis after revascularisation] // *Nefrologija*. [Nephrology]. 2012. V.16. N 1. P. 45-52. [In Russian].
4. Sipovskij V.G., Dobronravov V.A., Korunnaja A.V., Smirnov A.V. Kliniko-morfologicheskij analiz izmenenij peritubuljarnyh mikrososudov intersticija pochek u bol'nyh s IgA-nefropatij (IgAN) s ocenкой aktivnosti lektinovogo puti sistemy komplekta [Clinical-morphological analysis of changes of kidney interstitium peritubular microvessels in patients with a IgA-nephropathy (IgAN) with an assessment of activity of complement system lektin way] // *Nefrologija*. [Nephrology]. 2013. V.17. N 4. P. 32-35. [In Russian].
5. Shormanov I.S. Morfologicheskie osnovy narushenija funkcii pochek pri rasstrojstve renal'noj gemodinamiki [Morphological bases of kidneys dysfunction in renal haemodynamic disturbances.] // *Nefrologija*. [Nephrology]. 2005. V.10. N 1. P. 62-66. [In Russian].
6. Homeriki S.G., Zhukov A.G. Morfologicheskie osobennosti kapilljarnoj seti slizistoj obolochki zheludka u bol'nyh s portal'noj gipertenziej. [Morphologic features of stomach mucosa capillary network in patients with portal hypertension] // *Arhiv patologii*. [Archive of pathology]. 2011. V.73. N 1. P. 43-46. [In Russian].
7. Alexopoulos E, Gionanlis L, Papayianni E et al. Predictors of outcome in idiopathic rapidly progressive glomerulonephritis (IRPGN). // *BMC Nephrol*. 2006. V.7. P.6.
8. Bohle A, Strutz F, Müller GA. On the pathogenesis of chronic renal failure in primary glomerulopathies: a view from the interstitium. // *Exp Nephrol*. 1994. V.2. N4. P.205-210.
9. Bohle A, Wehrmann M, Mackensen-Haen S, Gise H, Mickeler E, Xiao TC, Müller C, Müller GA. Pathogenesis of chronic renal failure in primary glomerulopathies. // *Nephrol Dial. Transplant*. 1994. [suppl 3]. P. 4-12.
10. Bottinger EP. TGF-beta in renal injury and disease. // *Semin. Nephrol*. 2007. V. 27. P 309-320.
11. Chihara Y, Ono H, Ishimitsu et al. Roles of TGF-beta1 and apoptosis in the progression of glomerulosclerosis in human IgA nephropathy. // *Clin Nephrol*. 2006. V.65. N 6. P. 385-92.
12. El Karoui K, Hill GS, Karras A et al. Clinicopathologic study of thrombotic microangiopathy in IgA nephropathy. // *J Am Soc Nephrol*. 2012. V.23. N 1. P.137-48.
13. Fine LG, Norman JT. Chronic hypoxia as mechanism of progression of chronic kidney disease: from hypothesis to novel therapeutics // *Rudney International*. 2008. V.4. P.867-872.
14. Galichon P, Hertig A. Epithelial to mesenchymal transition as a biomarker in renal fibrosis: are we ready for the bedside. // *Fibrogenesis and Tissue repair*. 2011. V.4N:11. P. 2-7.
15. Glassock RJ. The pathogenesis of IgA nephropathy. // *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2011. V.20. P.153-160.
16. Ibels LS, Gyory AZ. IgA nephropathy: Analysis of the natural history, important factors in the progression of renal disease and a review of the literature. // *Medicine (Baltimore)*. 1994. V. 73. N5. P. 79-102.

17. Kizu A, Medici D, Kalluri R. Endothelial-mesenchymal transition as a novel mechanism for generating myofibroblasts during diabetic nephropathy. // *Am J Pathol.* 2009. V. 175. P. 1371–3.
18. Li PK, Ho KK, Szeto CC, Yu L, Lai FM. Prognostic indicators of IgA nephropathy in the Chinese - clinical and pathological perspectives. // *Nephrol Dial Transplant.* 2002. V.17. P. 64–69.
19. Minz R, Bakshi A, Chhabra S, Joshi K, Sakhuja V. Role of myofibroblasts and collagen type IV in patients of IgA nephropathy as markers of renal dysfunction. // *Indian J Nephrol.* 2010. V. 20. N 1. P.34-9.
20. Peng Sheng-Nan, Zeng Hui-Hong, Zhu Qing-Xian. Protection of rhein on IgA nephropathy mediated by inhibition of fibronectin expression in rats. // *Indian J Pharmacol.* 2013. V. 45. N 2. P. 174–179.
21. Strutz F, Zeisberg M. Renal fibroblasts and myofibroblasts in chronic kidney disease. // *J Am Soc Nephrol.* 2006. V.17. P.2992–8.
22. Wang W, Koka V, Lan HY. Transforming growth factor-beta and Smad signalling in kidney diseases. // *Nephrology (Carlton).* 2005. V.10. N 1. P. 48-56.
23. Wei Wu, Xiao-Yun Jiang, Qiao-Ling Zhang et al. Expression and significance of TGF- β 1/Smad signaling pathway in children with IgA nephropathy // *World Journal of Pediatrics.* 2009. V. 5. N 3. P 211-215.