

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ В ГЕРОНТОЛОГИИ

УДК 616.611

ЛИМФОИДНАЯ ИНФИЛЬТРАЦИЯ ПОЧЕЧНОЙ ТКАНИ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У БОЛЬНЫХ IGA-НЕФРОПАТИЕЙ С УЧЕТОМ ВОЗРАСТА

Т.С. Рябова
И.А. Ракитянская

*Санкт-Петербургская
больница Святого
Великомученика Георгия*

e-mail: tita74@mail.ru

Старение организма связано с прогрессирующим снижением функции иммунной системы и развитием супрессии иммунного ответа. В нашем исследовании было проанализировано влияние субпопуляционного состава лимфоидного инфильтрата почечной ткани у больных IgA-нефропатией с учетом возраста (1 гр. – до 59 лет, 2 гр. – после 60 лет). Показано, что в 2 группе снижено количества TdT⁺-клеток в составе инфильтрата клубочка, что указывает на нарушение регенераторных процессов, прогрессирующих с возрастом больного. Выявлено ускорение апоптоза мононуклеаров лимфоидного инфильтрата во II группе больных. Особенности субпопуляционного состава у больных 2 группы свидетельствуют о развитии иммуносупрессии у пожилых больных. Показано влияние лимфоидного инфильтрата на морфологические изменения почечной ткани у больных IgA-нефропатией с учетом возраста.

Ключевые слова: IgA-нефропатия, лимфоидный инфильтрат, морфологические изменения, возраст.

Введение. Старение организма человека связано с возрастными изменениями адаптивной иммунной системы и дисфункцией врожденного иммунного ответа [9]. Этот процесс сопровождается увеличением продукции провоспалительных цитокинов макрофагами и фибробластами, так как повышенная концентрация их в крови ответственна за большинство заболеваний, в основе патогенеза которых лежит иммуновоспалительная реакция [7]. На этом фоне развивается дисбаланс между про- и противовоспалительными цитокинами, который играет роль индикатора в развитии снижения функций иммунной системы и смертности в пожилом возрасте [15]. В развитии и прогрессировании морфологических изменений у больных хроническим гломерулонефритом большое значение играет лимфоидный инфильтрат, формируемый в почечной ткани. Иммуноморфологические методы исследования позволяют визуально оценивать взаимоотношения между почечной тканью, пролиферативный процесс, которой подвергается регулированию, и мононуклеарами лимфоидного инфильтрата. Варибельность состава мононуклеаров инфильтрата ткани свидетельствует о заинтересованности лимфоцитов в механизмах повреждения почечной ткани [1, 2, 3].

В наиболее ранних работах по изучению инфильтрата у больных IgA-N показано повышенное содержание T-suppressor/cytotoxic лимфоцитов (OKT8⁺ клетки) в сочетании с незначительным повышением числа T-helper/inducer лимфоцитов (Leu 3A⁺ клеток) и моноцитов [13]. Более выраженная T-лимфоидная инфильтрация в ткани была выявлена у больных с нарушением скорости клубочковой фильтрации (СКФ) во время проведения биопсии при сравнении с больными с нормальной СКФ, что показало и увеличение Leu 3A⁺ клеток и моноцитов при ухудшении функции почек. Прогрессирование IgA-N сопровождается повышенной активацией T-клеток с помощью костимуляторных сигналов, посредством связывания рецептора CD28 с родственными ли-

гандами (CD80/CD86), которые локализованы в антиген-презентирующих клетках. В результате чего происходит накопление Т-клеток (CD45RO+), моноцитов (CD14+), макрофагов (CD68+), экспрессия CD86 в клубочке, перигломерулярной зоне и в перитубулярном интерстиции [16]. При этом авторы выявили положительную корреляцию между экспрессией CD86 и количеством CD45RO, CD14 и CD68 позитивных клеток, а количество CD86+-клеток (в основном моноциты/макрофаги) и процентное содержание клеток канальцев, экспрессирующих CD80+, коррелирует с функцией почек у больных. При снижении функции почек у больных наблюдается повышение количества CD14+ и CD3+клеток и экспрессия ICAM-1+ в интерстиции, что рассматривается как маркер тубулоинтерстициального поражения при IgA-нефропатии [4, 5].

Целью данного исследования явилось изучение влияния моноклеаров лимфоидного инфильтрата почечной ткани на морфологические изменения у больных IgA-N с учетом возраста.

Материалы и методы. В исследование были включены 117 больных IgA -N от 19 до 74 лет, средний возраст составил $36,37 \pm 1,56$ лет. Женщины – 29%, мужчины – 71%. Диагноз был подтвержден при проведении световой и иммунофлюоресцентной микроскопии биоптатов ткани почек, полученных путем прижизненной пункционной биопсии. У всех больных проводилось исследование состава лимфоидного инфильтрата в клубочке и в интерстиции. Абсолютное количество клеток в составе инфильтрата рассчитывалось на каждый клубочек, аналогично в пяти полях зрения в интерстиции. Определяли абсолютное количество клеток с помощью моноклональных антител с маркерами CD3, CD4, CD8, CD25, CD19/ λ , CD19/ κ , TdT+-клетки, APO-FAS/CD95, с Fitc-меткой (“Dako” Германия). Длительность заболевания от первой клинической манифестации до проведения морфологического исследования и постановки диагноза составила $37,20 \pm 8,8$ месяца. В ходе исследования больные были разделены на две возрастные группы: 1 гр. – 98 пациентов в возрасте до 59 лет (средний возраст $36,92 \pm 1,96$ года); 2 гр. – 19 пациентов старше 60 лет (средний возраст $68,80 \pm 1,44$ года).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием параметрических и непараметрических критериев с помощью программы STATISTICA (версия 6). Критический уровень значимости различия показателей принимали равным 0,05.

Результаты исследования. Первоначально был проанализирован субпопуляционный состав лимфоидного инфильтрата в клубочке и в интерстиции у больных IgA-N в разных возрастных группах (таблица).

Таблица

Субпопуляционный состав лимфоидной инфильтрации в клубочке и в интерстиции в разных возрастных группах больных IgA-N

	1 группа		2 группа	
	Клубочек (1)	Интерстиций (2)	Клубочек(3)	Интерстиций (4)
TdT	$0,86 \pm 0,05$	$4,30 \pm 0,75$ $P(1-2)=0,003$	$0,35 \pm 0,07$ $P(1-3)=0,04$	$1,22 \pm 0,66$ $P(3-4)=0,03$ $P(2-4)=0,01$
CD3	$2,87 \pm 0,45$	$8,50 \pm 1,46$ $P(1-2)=0,03$	$1,20 \pm 0,28$ $P(1-3)=0,04$	$5,71 \pm 1,21$ $P(3-4)=0,02$ $P(2-4)=0,01$
CD4	$4,95 \pm 0,60$	$5,3 \pm 1,4$	$6,62 \pm 0,35$	$17,3 \pm 1,2$ $P(3-4)=0,04$ $P(2-4)=0,01$
CD8	$2,39 \pm 0,58$	$3,7 \pm 1,3$	$4,37 \pm 0,28$ $P(1-3)=0,04$	$7,64 \pm 0,9$ $P(2-4)=0,04$ $P(2-4)=0,05$
CD25	$1,0 \pm 0,66$	$5,56 \pm 1,69$ $P(1-3)=0,03$	$1,4 \pm 0,92$	$7,89 \pm 1,61$ $P(3-4)=0,002$
CD19/ λ	$27,7 \pm 2,86$	$31,5 \pm 4,3$	$12,72 \pm 1,05$ $P(1-3)=0,004$	$16,45 \pm 2,4$ $P(2-4)=0,01$
CD19/ κ	$24,5 \pm 1,76$	$36,7 \pm 3,90$ $P(1-2)=0,03$	$14,63 \pm 1,90$ $P(1-3)=0,03$	$20,64 \pm 2,7$ $P(3-4)=0,03$ $P(2-4)=0,01$
APO-FAS/CD95	$1,68 \pm 0,05$	$6,17 \pm 1,23$ $P(1-2)=0,04$	$6,50 \pm 0,73$ $P(1-3)=0,001$	$9,66 \pm 1,14$ $P(2-4)=0,01$

Как видно из представленной таблицы в составе инфильтрата в клубочке и в интерстиции присутствуют все исследуемые субпопуляции лимфоцитов. При сравнительном анализе инфильтрата в клубочке и в интерстиции в разных возрастных группах выявлено увеличение содержания в интерстиции клеток фенотипа CD3, CD4, CD25, CD19/k, TdT+, APO-FAS/CD95. Лимфоидный инфильтрат в интерстиции более богат по количественному составу мононуклеаров, чем в клубочке. Далее был проведен анализ субпопуляционного состава инфильтрата в клубочке у больных IgA-N с учетом возраста больного. Состав инфильтрата в клубочке различался в зависимости от возраста больного. В 2 группе отмечается снижение количества TdT+-клеток, что указывает на нарушение регенераторных процессов, прогрессирующих с возрастом больного. Содержание CD3 также уменьшено в составе инфильтрата в 2 группе, что говорит об изменениях субпопуляционного состава зрелых клеток в сторону их истощения и ускорение апоптоза мононуклеаров в клубочке у больных старше 60 лет. Повышение количества клеток фенотипа CD8 в составе инфильтрата клубочка у больных 2 группы свидетельствует о развитии супрессии иммунного ответа, которая усугубляется на фоне инфекционного поражения ткани почки. Характер изменения состава лимфоидного инфильтрата в интерстиции аналогичен изменениям в клубочке. Здесь также отмечалось увеличение количества клеток CD4, CD8 и снижение количества TdT+-клеток и CD19/λ и CD19/k у больных 2 группы.

После сравнительного анализа был проведен корреляционный анализ влияния субпопуляционного состава лимфоидного инфильтрата в почечной ткани больных IgA-N на морфологическую картину заболевания в разных возрастных группах. В результате проведенного корреляционного анализа в 1 группе было показано, что:

1. Развитие глобального склероза клубочков зависит от CD3 клеток ($\tau = -0,317$ $p = 0,044$) в интерстициальном пространстве;
2. Выраженность сегментарного склероза клубочков зависит от TdT+-клеток, как в клубочке ($\tau = 0,347$ $p = 0,020$), так и в интерстиции ($\tau = -0,313$ $p = 0,036$);
3. Выраженность дистрофии эпителия канальцев зависит от CD4 ($\tau = -0,531$ $p = 0,005$) и CD19/λ ($\tau = 0,325$ $p = 0,033$) в клубочке. От содержания TdT+-клеток ($\tau = 0,365$ $p = 0,017$) и CD19/k ($\tau = 0,336$ $p = 0,034$) в инфильтрате интерстиция;
4. Развитие склеротических изменений стромы зависит от CD4 ($\tau = -0,531$ $p = 0,005$) и TdT+ -клеток ($\tau = 0,709$ $p = 0,0001$) в клубочке;
5. На формирование фуксинофильных отложений в клубочке влияют CD4 ($\tau = 0,352$ $p = 0,029$), TdT+-клетки ($\tau = -0,450$ $p = 0,004$), APO-FAS-1/CD95 ($\tau = 0,369$ $p = 0,019$). В интерстиции влияют клетки CD8 ($\tau = -0,390$ $p = 0,016$);
6. Степень гипертрофии артерий и артериол клубочка зависит от состава лимфоидного инфильтрата (CD4- $\tau = -0,529$ $p = 0,029$; $\tau = -0,392$ $p = 0,010$ и CD19/k- $\tau = -0,335$ $p = 0,033$), APO-FAS-1/CD95 ($\tau = -0,345$ $p = 0,024$).

В результате проведенного корреляционного анализа во 2 группе было показано, что:

1. Развитие глобального склероза клубочков зависит от CD3 ($\tau = -0,315$ $p = 0,004$) в инфильтрате интерстиция;
2. Выраженность сегментарного склероза клубочков зависит от TdT+-клеток в клубочке ($\tau = 0,337$ $p = 0,004$) и в интерстиции ($\tau = -0,328$ $p = 0,004$);
3. Выраженность дистрофии эпителия канальцев зависит от CD19/λ в клубочке ($\tau = 0,365$ $p = 0,003$) и от TdT+-клеток ($\tau = 0,410$ $p = 0,001$) и CD19/k ($\tau = 0,306$ $p = 0,001$) в интерстиции;
4. Развитие склеротических изменений стромы зависит от TdT+-клеток ($\tau = 0,657$ $p = 0,001$);
5. На формирование фуксинофильных отложений в клубочке влияют TdT+-клетки ($\tau = -0,475$ $p = 0,002$), APO-FAS-1/CD95 ($\tau = 0,384$ $p = 0,009$). В интерстиции влияет присутствие клеток CD8 ($\tau = -0,353$ $p = 0,015$) в инфильтрате;
6. Степень гипертрофии артерий и артериол клубочка зависит от числа мононуклеаров APO-FAS-1/CD95 ($\tau = -0,340$ $p = 0,018$).



Обсуждение. Полученные результаты свидетельствуют о существенной роли лимфоидного инфильтрата в развитии морфологических изменений почечной ткани у больных IgA-N. В основе механизма воздействия мононуклеаров на ткань почки лежит главная функция лимфоцитов – контроль и осуществление физиологической регенерации ткани. В условиях повреждения почечной ткани нарушается физиологический процесс пролиферации не только самого лимфоцита, но и клеток нефрона, где образуется лимфоидный инфильтрат. Это положение вытекает из представлений о бифункциональной роли лимфоцитов, посредством которой обеспечивается процесс пролиферации, дифференцировки, физиологической и репаративной регенерации [2].

В составе лимфоидного инфильтрата в клубочке и в интерстиции у больных обеих групп выявлены все исследуемые фенотипы клеток, однако наиболее богат по своему составу инфильтрат в интерстиции. Это подтверждается в работе Li HL., и соавт. [12], которые выявили увеличение содержания Т-лимфоцитов и моноцитов в пять раз, а количество CD25 клеток на 20% в интерстиции у больных IgA-N.

Для пожилых характерно развитие супрессии иммунного ответа за счет снижения абсолютного числа общих Т-клеток (CD3+), CD4+ и CD8+ субпопуляций и функциональной активности, увеличения NK-клеток, уменьшения В-клеток, снижения продукции цитокинов, нарушения апоптоза [14]. Одной из основных характеристик иммунной системы в процессе старения является прогрессивное, возраст-зависимое снижение CD8+субпопуляции мононуклеаров у пожилых больных, которая ответственна за защиту от новых антигенов (вирусные, опухолевые, бактериальные и др.) и может быть следствием как инволюции тимуса, так и хронической антигенной стимуляции. Истощение с возрастом CD28-Т-клеток, находящихся в фазе репликативного старения, характеризуется снижением пролиферативной активности и развитием специфичности к отдельным инфекциям, в частности к цитомегаловирусу (CMV), что приводит к выраженной экспансии CMV-специфического CD8+Т-клеточного клона в пожилом возрасте [14].

Нами получено уменьшение количества клеток CD3, CD19/λ и CD19/κ в инфильтрате во 2 группе, что подтверждает развитие иммуносупрессии у пожилых больных. На развитие глобального склероза клубочков в обеих группах оказывают влияние CD3 в интерстиции, что связано с тем, что количество этих клеток в зоне интерстиция не отличается в обеих группах. Развитие депрессии в системе раннего лимфопоэза подтверждается снижением количества ранних TDT+-клеток во 2 группе, что указывает на нарушение регенераторных процессов ткани, прогрессирующих у больного после 60 лет. Однако развитие сегментарного склероза клубочков, выраженность дистрофии эпителия канальцев, развитие склероза стромы и образование фуксинофильных отложений зависит от присутствия в составе инфильтрата количества TdT+-клеток, как в зоне клубочка, так и в интерстиции и не изменяется после 60 лет. Выявленные корреляционные зависимости не отличались в обеих возрастных группах. Вероятно, это связано с универсальностью механизмов развития и прогрессирования склеротических процессов почечной ткани в любом возрасте. Ранее показано увеличение числа В-клеток (CD20) в интерстиции в большей степени, чем в клубочке при развитии тубуло-интерстициальных повреждений при IgA-N, однако связь между морфологическими изменениями ткани и количеством CD20+В-клеток в интерстиции не выявлена [8]. После 60 лет выявлены изменения в субпопуляциях В-лимфоцитов – уменьшение числа CD5+, CD40+, CD27+. Эти данные в совокупности с увеличением числа NK клеток в процессе старения свидетельствуют о развитии снижения гуморального иммунного ответа с нарушением продукции антител и развитием повышенной чувствительности пожилого больного к инфекционному поражению ткани почки [6]. При исследовании влияния В-клеток (CD19/λ и CD19/κ) показано, что степень дистрофии эпителия канальцев и выраженность гипертрофии артерий и артериол клубочка зависит от количества этих клеток в составе инфильтрата как клубочка, так и интерстиция в 1 группе больных, в то время, как после 60 лет их влияние сохраняется только на развитие дистрофии эпителия канальцев. Это подтверждает положение о возрастных особенностях субпопуляций В-клеток.

В проведенном исследовании выявлено ускорение процесса апоптоза мононуклеаров инфильтрата в клубочке у больных 2 группы. Известно, что у пожилых лиц увеличивается чувствительность клеток крови к TNF- α -индуцированному апоптозу [11]. Повышение чувствительности naïve и CD8+T-клеток у пожилых больных к TNF- α -индуцированному апоптозу обусловлено активацией caspase-8 и caspase-3. Однако связи между чувствительностью/резистентностью CD4+ или CD8+T-клеток к CD95-опосредованному апоптозу и экспрессии CD95 не выявлено, это говорит о том, увеличение CD95-опосредованного апоптоза T-клеток играет определенную роль в снижении их количества в пожилом возрасте [10]. Полученные нами результаты согласуются с данными этих работ и свидетельствуют о том, что у больных 2 группы повышается чувствительность мононуклеаров в составе инфильтрата к индуцированному апоптозу. Это подтверждается влиянием апоптоза клеток на формирование фуксинофильных отложений и развитие гипертрофии артерий и артериол клубочка не зависимо от возраста больного.

Следовательно, наличие лимфоидного инфильтрата в почечной ткани определяет морфологические изменения, а различия субпопуляционного состава инфильтрата у лиц разных возрастных групп выявляют особенности этих влияний.

Выводы:

1. Выявлено развитие иммуносупрессии во 2 группе больных, проявляющееся уменьшением количества клеток CD3, CD19/ λ и CD19/ κ в составе инфильтрата;
2. На развитие склеротических и фиброзных изменений в почечной ткани влияет количество TDT+ -клеток не зависимо от возраста больного;
3. На развитие глобального склероза клубочков в обеих группах оказывают влияние CD3 в составе инфильтрата интерстиция;
4. У больных 2 группы выявлено повышение чувствительности мононуклеаров в составе инфильтрата к индуцированному апоптозу, что подтверждается влиянием апоптоза клеток на формирование фуксинофильных отложений и развитие гипертрофии артерий и артериол клубочка.

Литература

1. Ракитянская, И.А., Рябов С.И. Роль мононуклеаров в поражении нефрона у больных хроническим гломерулонефритом / И.А. Ракитянская, С.И. Рябов // Нефрология. – 1997. – Т.1. – С. 45-52.
2. Рябов, С.И. Нефрология / С.И. Рябов. – СПб.: СпецЛит. – 2000. – С. 37-69.
3. Alexopoulos, E. The role of interstitial infiltrates in IgA nephropathy: a study with monoclonal antibodies / E. Alexopoulos (and oth.) // Nephrol Dial Transplant. – 1989. – Vol.4. – P. 187-95.
4. Arrizabalaga, P. Renal expression of intercellular adhesion molecule-1 in immunoglobulin A nephropathy: tubulointerstitial injury and prognosis / P Arrizabalaga (and oth.) // Virchows Arch. – 2001. – Vol.439. – N.1. – P. 27-34.
5. Arrizabalaga, P. Tubular and interstitial expression of ICAM-1 as a marker of renal injury in IgA nephropathy / P Arrizabalaga (and oth.) // Am J Nephrol. – 2003. – Vol.23. – N.3. – P. 121-8.
6. Colonna-Romano, G. B cells in the aged: CD27, CD5, and CD40 expression / G. Colonna-Romano (and oth.) // Mech Ageing Dev. – 2003. – Vol.124. – N.4. – P. 389-93.
7. De Martinis, M. Inflamm-aging and lifelong antigenic load as major determinants of ageing rate and longevity / M. De Martinis (and oth.) // FEBS Lett. – 2005. – Vol.579. – P.2035-9.
8. Florian, Heller. The Contribution of B Cells to Renal Interstitial Inflammation / Heller Florian (and oth.) // Am J Pathol. – 2007. – Vol.170. – N.2. – P. 457-468.
9. Gomez, CR. The aging innate immune system / CR. Gomez, ED. Boehmer, EJ. Kovacs // Curr Opin Immunol. – 2005. – Vol. 17. – P. 457-62.
10. Gupta, S. CD95-mediated apoptosis in naïve, central and effector memory subsets of CD4+ and CD8+ T cells in aged humans / S. Gupta , S. Gollapudi // Exp Gerontol. – 2008. – Vol.43. – N.4. – P. 266-74.
11. Gupta, S. TNF-alpha-induced apoptosis in human naïve and memory CD8+ T cells in aged humans / S. Gupta , S. Gollapudi // Exp Gerontol. – 2006. – Vol.41. – N.1. – P. 69-77.
12. Li, HL. Mononuclear cell activation and decreased renal function in IgA nephropathy with crescents / HL. Li (and oth.) // Kidney Int. – 1990. – Vol.37. – N. 6. – P. 1552-6.
13. Sabadini, E. Characterization of interstitial infiltrating cells in Berger's disease / E. Sabadini (and oth.) // Am J Kidney Dis. – 1988. – Vol.12. – N 4. – P. 307-15.



14. Sansoni, P. The immune system in extreme longevity / P. Sansoni (and oth.) // Exp Gerontol. – 2008. – Vol.43. – N.2. – P. 61-5.
15. Van den Biggelaar, AH. Impaired innate immunity predicts frailty in old age. The Leiden 85-plus study / AH. Van den Biggelaar (and oth.) // Exp Gerontol. – 2004. – Vol.39. – P. 1407–14.
16. Wu, Q. Clinical significance of costimulatory molecules CD80/CD86 expression in IgA nephropathy / Q. Wu (and oth.) // Kidney Int. – 2004. – Vol.65. – N.3. – P. 888-96.

LYMPHOID INFILTRATION OF RENAL TISSUE AND MORPHOLOGICAL CHANGES IN PATIENTS WITH IGA-NEPHROPATHY ACCORDING TO AGE

Aging of the organism is associated with progressive decline in immune system function and development, suppression of immune response. In our study analyzed the influence of the subpopulation of lymphoid infiltration of renal tissue in patients with IgA-nephropathy according to age (1 oz. – Up to 59 years, 2 oz. - after 60 years). Showed that in group 2 reduced the number of TdT +-cell infiltration in the glomeruli, which indicates a violation of regenerative processes, progressing from the age of the patient. Revealed accelerated apoptosis of mononuclear cells of lymphoid infiltration in Group II patients. Features subpopulation of patients with group 2 show the development of immunosuppression in elderly patients. Shows the effect of lymphoid infiltration on the morphological changes of renal tissue in patients with IgA-nephropathy according to age.

T.S. Ryabova
I.A. Rakityanskaya

*Hospital of Holy Martyr George,
St.Petersburg*

e-mail: tita74@mail.ru

Keywords: IgA-nephropathy, lymphoid infiltration, pathological changes, aged.