

А. Н. Маслова, М. А. Рудь

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СТЕРОИД-РЕЗИСТЕНТНОГО НЕФРОТИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. В. В. Савош

Кафедра патологической анатомии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A. N. Maslova, M. A. Rudz

IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS IN CHILDREN WITH NEPHROTIC SYNDROME

Tutor: cand. of med. sciences, assoc. prof. V. V. Savosh

Department of Pathology,

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В статье приведены результаты ретроспективного анализа пункционных биопсий пациентов с нефротическим синдромом. У них выявлено снижение экспрессии нефрина и в большей степени подокаликсина, при этом наличие резистентности к глюкокортикостероидной терапии ассоциировано с более выраженным снижением экспрессии подокаликсина в сравнении с пациентами, чувствительными к стероидной терапии.

Ключевые слова: стероидрезистентный нефротический синдром, подокаликсин, нефрин, подоциты.

Resume. In the article results of a retrospective analysis of puncture biopsies of patients with nephrotic syndrome are given. It been revealed a decrease in the expression of nephrin and to a greater extent of podocalyxin, herewith the presence of resistance to glucocorticosteroid therapy is associated with a more pronounced decrease in the expression of podocalyxin in comparison with patients sensitive to steroid therapy.

Keywords: steroid resistance nephrotic syndrome, podocalyxin, nephrin, podocytes.

Актуальность. Нефротический синдром (НС) - это клинико-лабораторный симптомакомплекс, для которого характерны: протеинурия (>50 мг/кг/сут), гипоальбуминемия (<25 г/л), диспротеинемия, гиперлипидемия и отеки, в том числе полостные [1]. Нефротический синдром обусловлен мутациями генов, и эти гены обеспечивают синтез белков нефрина и подокаликсина, локализованных в подоцитах и непосредственно участвующих в формировании щелевой диафрагмы гломерулярной базальной мембраны. Нефрин имеет короткий внутриклеточный домен, трансмембранный домен и внеклеточный домен. Молекулы нефрина из соседних малых ножек взаимодействуют друг с другом в середине фильтрационной щели и формируют каркас щелевой диафрагмы. Внутриклеточный домен нефрина связан с актиновым цитоскелетом клетки и принимает участие в передаче внутриклеточных сигналов. Гликопротеид подокаликсин - главный компонент гликокаликса, несущий большую часть отрицательного заряда. Он входит в апикальный белковый домен подоцитов и расположен выше уровня щелевой диафрагмы. Внеклеточный домен подокаликсина имеет сложную разветвленную структуру и несет отрицательный заряд, а внутриклеточный связан с цитоскелетом. Подокаликсин участвует в заряд-селективной фильтрации и поддерживает фильтрационные щели в открытом состоянии, обеспечивая функцио-

нирование щелевой диафрагмы [2].

НС является одной из самых распространённых гломерулопатий у детей, и в зависимости от ответа на лечение глюкокортикостероидными препаратами делится на стероидочувствительный и стероидорезистентный, при этом последний представляется наиболее сложным в лечении. Поэтому выявление маркеров экспрессии биологических молекул в ткани почки является актуальным и перспективным методом в клинической практике.

Цель: Оценить характер экспрессии белков щелевой диафрагмы (нефрина и подокаликсина) у пациентов с нефротическим синдромом (НС).

Задачи:

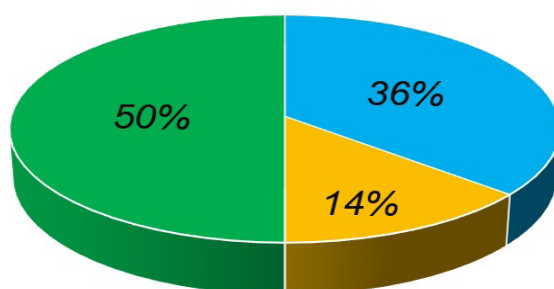
1) Изучить особенности развития стероид-резистентного нефротического синдрома.

2) Проанализировать количественное содержание нефрина и подокаликсина подоцитов в клубочках нефронов.

3) Установить взаимосвязь между содержанием подокаликсина и нефрина и развитием стероид-резистентного нефротического синдрома.

Материал и методы. Материалом для исследования послужил материал 43 пациентов с нефротическим синдромом в период с 2011 по 2013 год. Все пункционные биопсии выполнены в УЗ “2-ая городская детская клиническая больница” г. Минска, препараты были окрашены гематоксилином и эозином, MSB-методом (Marcius-Scarlet-Blue) на фибрин, по Масону, реактивом Шиффа, а также выполнено иммуногистохимическое исследование с антителами к подакаликсину и нефрину. Пункционные биопсии были проанализированы с помощью программы анализа изображений Aperio ImageScope с алгоритмом «Positive Pixel Count v9». Для оценки интенсивности окрашивания использовался показатель экспрессии (ПЭ) Positivity, который рассчитывался программой как отношение числа позитивных пикселей к площади капиллярного тельца. Статистический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения STATISTICA 10.0. В таблицах и тексте данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение.

Результаты и их обсуждение. На основании материалов УЗ “2-ая городская детская клиническая больница” г. Минска было установлено, что в изученном материале большинство пациентов (25 из 43; 58 %) было мальчиков, 18 (42%) - девочек. Средний возраст пациентов составил $10,4 \pm 2,8$ лет. После проведения световой микроскопии были выставлены следующие морфологические диагнозы: нефропатия минимальных изменений (21 случаев из 43), IgM-нефропатия (8 случаев) и фокально-сегментарный гломерулосклероз (14 случаев) (рисунки 1).



- Нефрпатия минимальных изменений
- Ig-M нефрпатия
- Фокально-сегментарный гломерулосклероз

Рис. 1 - Нозологические формы гломерулопатий при нефротическом синдроме

Экспрессия нефрина наблюдалась только в подоцитах клубочков. Окрашивание было псевдомембранным, так как нефрин экспрессируется на латеральной поверхности малых ножек подоцитов. Позитивное окрашивание с антителами к нефрину было обнаружено во всех исследованных случаях. Интенсивность окрашивания варьировала от слабой до выраженной как в исследуемой группе (рисунок 2), так и в группе сравнения (рисунок 3).

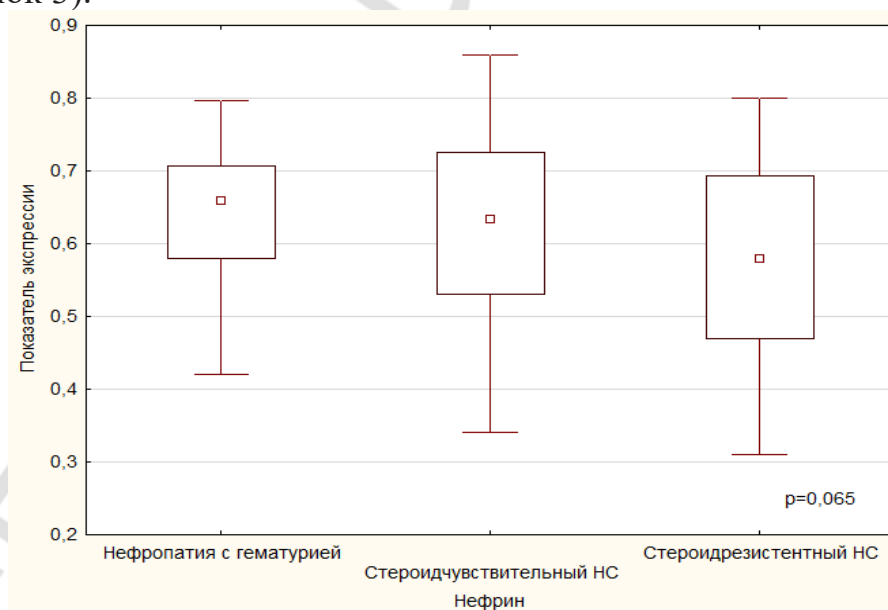


Рис. 2 - Показатели экспрессии нефрина при нефротическом синдроме и гематурической форме гломерулопатий

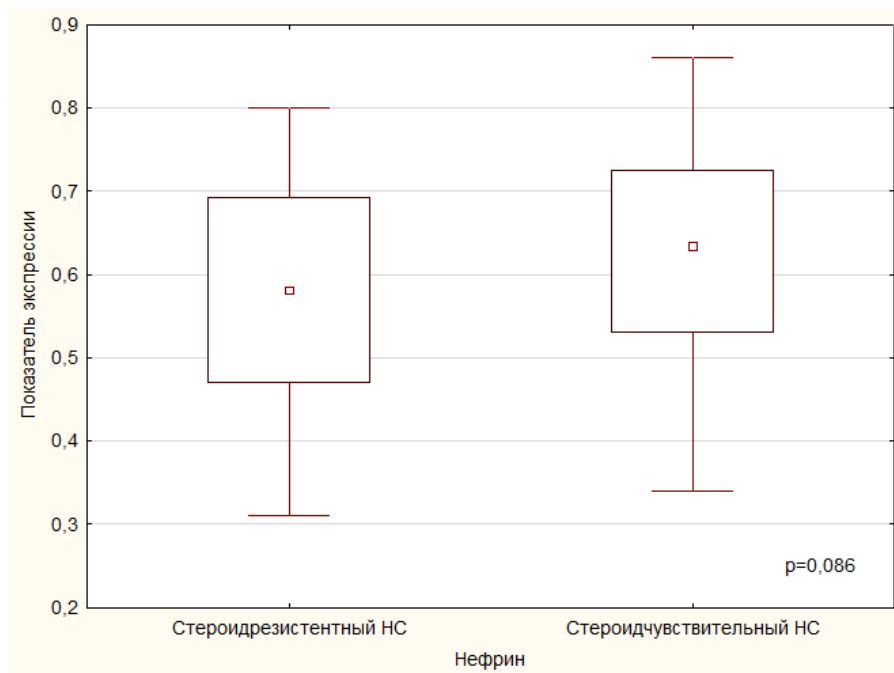


Рис. 3 - Показатели экспрессии нефрина при стероидчувствительном и стероидрезистентном нефротическом синдроме

Экспрессия подокаликсина наблюдалась в подоцитах и эндотелиоцитах, а также в клетках париетального листка капсулы клубочков. Окрашивание было псевдомембранным, поскольку подокаликсин входит в состав гликокаликса и расположен вдоль мембраны клетки. Позитивное окрашивание с антителами к подокаликсину было обнаружено во всех исследованных случаях. Интенсивность окрашивания в исследуемой группе варьировала от слабой до выраженной (рисунок 4), а в группе сравнения от умеренно выраженной до выраженной (рисунок 5).

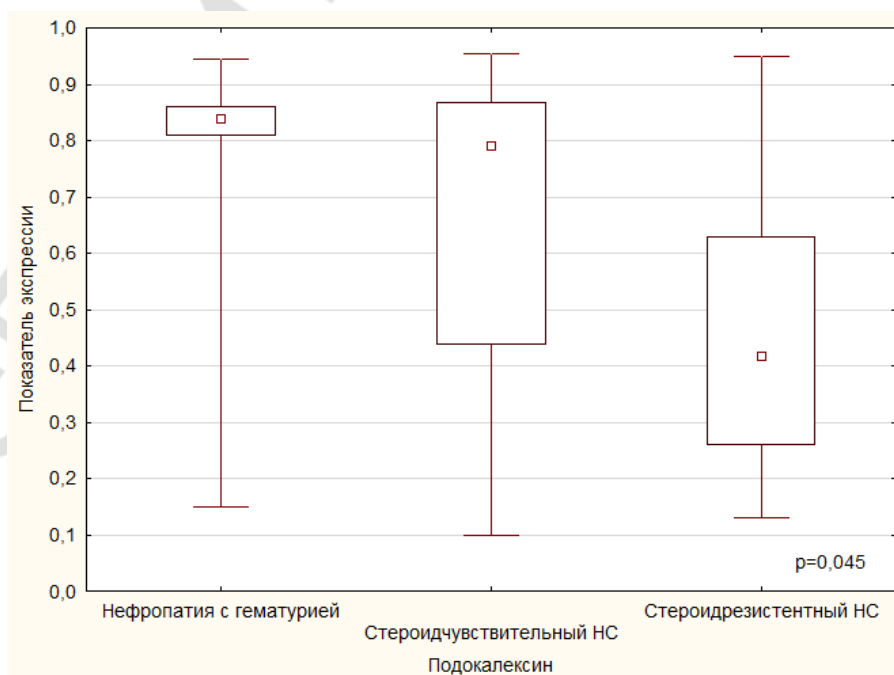


Рис. 4 - Показатели экспрессии подокаликсина при нефротическом синдроме и гематурической форме гломерулопатий

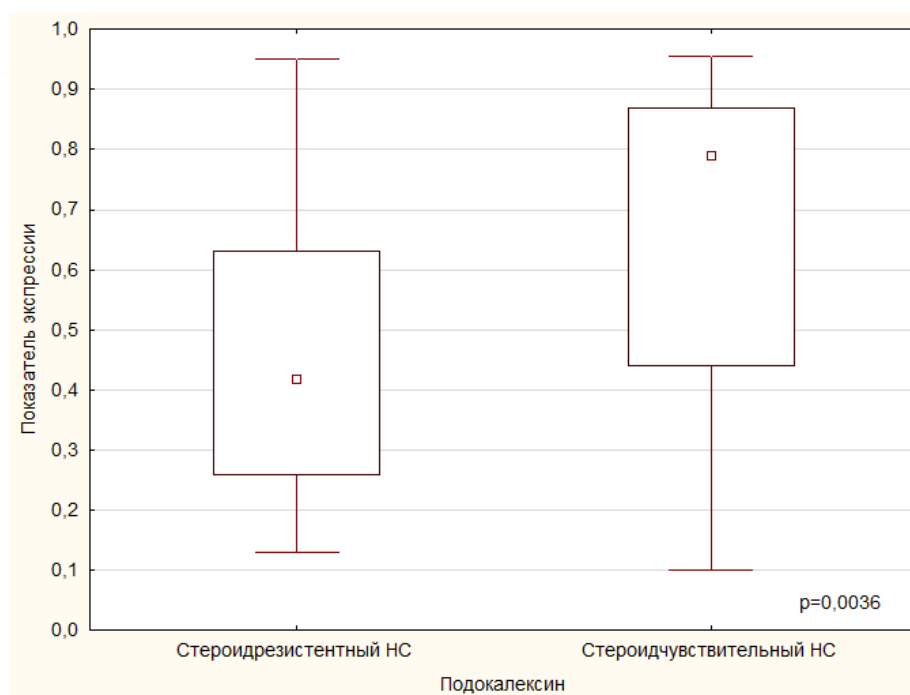


Рис. 5 - Показатели экспрессии подокаликсина при стероидчувствительном и стероидрезистентном нефротическом синдроме

Выводы:

1) Развитие нефротического синдрома сопровождается снижением экспрессии нефрина и в большей степени подокаликсина.

2) Наличие резистентности к глюкокортикостероидной терапии ассоциировано с более выраженным снижением экспрессии подокаликсина в сравнении с пациентами, чувствительными к стероидам.

Литература

1) Нефротический синдром / А. Н. Цыгин, О. В. Комарова, Т. В. Сергеева и др. // Журнал «Педиатрическая фармакология» №5. - 2006. – С.1-7.

2) National Center for Biotechnology Information - [Electronic resource] – Davin J.C, Rutjes N.W. “Nephrotic syndrome in children: from bench to treatment.” - International journal of nephrology vol. 2011. - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3163400>. - 14.02.2019