

UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM

WYDZIAŁ LEKARSKI

lek. med. Krzysztof Okoń

ZMIANY POZAKŁĘBUSZKOWE
W PRZEBIEGU PIERWOTNYCH KŁĘBUSZKOWYCH CHOROÓB NEREK
W BIOPSIJACH GRUBOIGŁOWYCH
(UJĘCIE ILOŚCIOWE)

Bibl. Medyczna CM UJ



1816019595

Praca doktorska przygotowana w

Katedrze Patomorfologii

Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego

promotor

prof. dr hab. med. Jerzy Stachura

Kraków 2001

Spis treści

<i>Wstęp</i>	3
<i>Cel pracy</i>	36
<i>Material i metody</i>	37
<i>Wyniki</i>	52
<i>Dyskusja</i>	77
<i>Podsumowanie wyników</i>	113
<i>Wnioski</i>	115
<i>Streszczenie</i>	116
<i>Fotografie</i>	120
<i>Bibliografia</i>	132

Podziękowania

Autor składa serdeczne podziękowania wszystkim tym, którzy przyczynili się do powstania pracy, a w szczególności:

mojemu promotorowi, profesorowi Jerzemu Stachurze, bez którego życzliwej uwagi i pomocy praca ta nie mogłaby powstać,

moim nauczycielom nefropatologii, w szczególności Pani Doktor Magdalenie Dubiel-Bigaj, Panu Doktorowi Wojciechowi Dąbrosiowi, Panu Doktorowi Witoldowi Mieżyńskiemu, Pani Doktor Barbarze Urbanowicz,

Panu Doktorowi Jean-Paul Bogersowi, z uniwersytetu UIA w Antwerpii, który uczył mnie podstaw patologii ilościowej,

kierownikom i pracownikom współpracujących z Katedrą Patomorfologii Oddziałów Nefrologicznych, którzy wyszukali i życzliwie udostępnili dane kliniczne wykorzystane w pracy:

Panu Profesorowi Władysławowi Sułowiczowi i Pani Doktor Barbarze Chruściel z Kliniki Nefrologii Collegium Medicum UJ,

Panu Profesorowi Olgierdowi Smoleńskiemu i Pani Doktor Agnieszce Kirker-Nowak z Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego im. Rydygiera w Krakowie,

Panu Doktorowi Zbigniewowi Roškowi ze szpitala w Nowym Sączu,

Panu Doktorowi Antoniemu Sydorowi ze szpitala Św. Łukasza w Tarnowie,

Panu Doktorowi Krzysztofowi Sysło ze szpitala im. A. Szczeklika w Tarnowie,

Artyście Fotografikowi Panu Magistrowi Krzysztofowi Skomskiemu, który pomógł mi przygotować wykorzystane w pracy fotografie.

Ważniejsze skróty występujące w tekście

ACE	<i>angiotensine converting enzyme</i>
ANCA	<i>anti-neutrophil cytoplasmic anttbody</i>
bFGF	<i>basic fibroblast growth factor</i>
CTGF	<i>connective tissue growth factor</i>
GH	<i>growth hormone</i>
GPF	<i>glomerular permeability factor</i>
HGF	<i>hepatocyte growth factor</i>
iACE	<i>angiotensine converting enzyme inhibitor</i>
ICAM-1	<i>intercellular adhesion molecule-1</i>
IGF-1	<i>insulin-like growth factor-1</i>
IGFBP-1	<i>insulin-like growth factor-binding protein -1</i>
IL-1	<i>interleukina 1</i>
IL-15	<i>interleukina 15</i>
IL-6	<i>interleukina 6</i>
IL-8	<i>interleukina 8</i>
INF- γ	<i>interferon γ</i>
M-CSF	<i>macrophage colony stimulating factor</i>
MCP-1	<i>monocyte chemoattractant protein - 1</i>
MHC-II	<i>klasa II antygenów major histocompability complex</i>
p	<i>poziom istotności testu statystycznego</i>
pANCA	<i>perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody</i>
paS	<i>kwas nadjodowy - odczynnik Shiffa</i>
PDGF	<i>platelet derived growth factor</i>
r	<i>współczynnik korelacji wg Pearsona</i>
R	<i>współczynnik korelacji rang wg Spearmana</i>
RANTES	<i>regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted</i>
RR	<i>ciśnienie tętnicze krwi</i>
SE	<i>błąd standartowy średniej</i>
SPARC	<i>secreted protein acidic and rich in cysteine</i>
TGF- β	<i>transforming growth factor β</i>
TNF- α	<i>tumor necrosis factor α</i>
VCAM-1	<i>vascular cell adhesion molecule - 1</i>
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
VPF	<i>vascular permeability factor</i>

Wstęp

Internistyczne choroby nerek przyjęło się dzielić w zależności od tego, który składnik nerki jest pierwotnie zajęty przez proces chorobowy. W związku z tym główne kategorie chorób nerek to nefropatie naczyniowe, nefropatie podścieliskowo-kanalikowe i glomerulopatie. Nazewnictwo to może sugerować, że w wypadku kłębuszkowego zapalenia nerek kłębuszek jest jedynym składnikiem miąższu nerki zajęty przez proces chorobowy. Tak nie jest; co więcej, procesy toczące się poza samym kłębuszkiem są w przebiegu kłębuszkowego zapalenia nerek niezwykle istotne dla przebiegu choroby oraz rokowania.

Kłębuszkowe zapalenia nerek są stosunkowo rzadkie, podczas gdy nefropatie śródmiąższowo-kanalikowe można stwierdzić u 5 - 15% dorosłej populacji generalnej. Równocześnie, kłębuszkowe zapalenia nerek stanowią wyjściową przyczynę niewydolności nerek aż u 30 - 45 % chorych dializowanych i w podobnym odsetku u chorych poddawanych przeszczepowi nerki. Częstość rozwoju przewlekłej niewydolności w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek ocenia się na 12 - 27%. Progresa do niewydolności nerek w przebiegu chorób kłębuszkowych jest zarówno szybsza jak i mniej przewidywalna niż w innych przewlekłych chorobach nerek. Choroby kłębuszkowe charakteryzują się znaczną różnorodnością przebiegu, także w obrębie poszczególnych jednostek kliniczno-morfologicznych. Z faktów tych wynika potrzeba tworzenia metod pozwalających na dokładniejsze przewidywanie rokowania. Takie metody muszą opierać się na poznaniu mechanizmów patogenezy powstawania niewydolności nerek w chorobach kłębuszków nerkowych, nie powinny zakłócać rutynowego przebiegu diagnostyki, a także powinny zapewniać dostateczną powtarzalność. Takie wymagania może spełnić patologia ilościowa [7, 23, 102].

1 Podstawy patogenezy kłębuszkowych zapaleń nerek.

Główne mechanizmy patogenezy kłębuszkowych zapaleń nerek mają podłoże immunologiczne. W wielu zarówno pierwotnych jak i wtórnych chorobach kłębuszków nerkowych podstawową rolę odgrywa odkładanie kompleksów antygen-przeciwciało. Antygenowy składnik takich kompleksów mogą stanowić zarówno substancje zewnątrzpochodne (jak antygeny pochodzenia wirusowego czy bakteryjnego), jak i wewnątrzpochodny (jak własne DNA czy glikoproteiny obecne na powierzchni komórek nabłonkowych kłębuszków). Tworzenie kompleksów immunologicznych może zachodzić zarówno w krwiobiegu jak i na terenie samego kłębuszka. Lokalizacja złogów immunologicznych w obrębie kłębuszka, zależy od ich wielkości, ładunku elektrycznego, a także współdziałania innych mechanizmów, szczególnie kaskadowego układu dopełniacza. Odkładanie złogów immunologicznych powoduje uszkodzenie komórek kłębuszka. Uszkodzenie przejawia się odpowiedzią tych komórek,

szczególnie mezangialnych, poprzez 1) proliferację, 2) zmianę fenotypu i "aktywację", 3) produkcję macierzy pozakomórkowej. W rezultacie zachodzi zmiana składu i ilości macierzy mezangialnej a także błony podstawnej kapilar kłębuszkowych, co prowadzi do wystąpienia objawów klinicznych w postaci białkomoczu, krwinkomoczu i zaburzeń filtracji. W patogenezie części przypadków kłębuszkowych zapaleń nerek mogą także uczestniczyć przeciwciała skierowane przeciwko składnikom cytoplazmy granulocytów (ANCA). Rola tych przeciwciał w patogenezie kłębuszkowych zapaleń nerek nie jest jednak pewna; według części autorów obecność tych przeciwciał może stanowić epifenomen. Rola odczynu komórkowego jest stosunkowo słabo poznana. Uważa się, że limfocyty T i NK mogą mieć podstawowe znaczenie w produkcji mediatorów indukujących białkomocz w glomerulopatii minimalnej i w rozwoju niektórych postaci szybko postępującego kłębuszkowego zapalenia nerek ze skąpyimi złoгами immunologicznymi (*pauci-immune glomerulonephritis*) [4, 30, 150, 173].

2 Diagnostyka

Rozpoznawanie kłębuszkowych zapaleń nerek nie jest łatwe. Ilość jednostek chorobowych jest duża, a ich odróżnienie na podstawie objawów klinicznych i wyników badań biochemicznych w większości przypadków nie jest możliwe. Dla postawienia rozpoznania konieczna jest ocena biopsji nerki. Biopsja nerki wykonywana jest najczęściej za pomocą 'grubej' igły, pod kontrolą ultrasonografu. Materiał dostarczany jest do pracowni histopatologicznej w stanie świeżym i rozdzielany do wykonania preparatów dla mikroskopii optycznej, immunofluorescencji bezpośredniej oraz do oceny w mikroskopie elektronowym. W większości przypadków rozpoznanie kłębuszkowego zapalenia nerek nie jest możliwe bez łącznego zastosowania tych trzech metod, oraz uwzględnienia obrazu klinicznego. Główne cechy morfologiczne występujące na poziomie mikroskopu optycznego w przebiegu różnych kłębuszkowych chorób nerek to zwiększenie ilości macierzy mezangium, wzrost ilości komórek mezangium, pojawienie się na terenie kłębuszka komórek nacieku zapalnego, w tym granulocytów, rozplem komórek w obrębie przestrzeni Bowmana (tworzenie półksiężyców), pogrubienie ścian kapilar. W badaniu immunofluorescencyjnym bada się obecność na terenie kłębuszka złożeń immunoglobulin klas A, G i M oraz składników dopełniacza i fibrynogenu. Złogi te mogą znajdować się na terenie mezangium lub w ścianach kapilar kłębuszkowych. Najważniejsze zmiany opisywane w badaniu ultrastrukturalnym to elektronowogęste złogi, odpowiadające kompleksom antygen - przeciwciało, lokalizujące się w obszarze mezangium (złogi mezangialne), albo wzdłuż błon podstawnych kapilar, od strony przestrzeni moczowej (złogi podnabłonkowe) lub światła kapilary (złogi podśródbłonkowe).

Do zmian pozakłębuszkowych stwierdzanych w wypadku kłębuszkowych zapaleń nerek należą przede wszystkim zmiany w obrębie podścieliska, polegające na zwiększeniu jego ilości z odkładaniem tkanki włóknistej i z proliferacją komórek podścieliskowych o charakterze (mio-)fibroblastycznym [100]. W obrębie podścieliska pojawiają się też nacieki zapalne o różnym składzie komórkowym. Równocześnie kanaliki ulegają zanikowi, czemu często towarzyszy pogrubienie ich błon podstawnych. W obrębie naczyń pozakłębuszkowych dochodzi do pogrubienia błony wewnętrznej, z duplikacją blaszki sprężystej wewnętrznej, a w drobniejszych naczyniach do szklatego przekształcenia ściany. Zmiany pozakłębuszkowe nie mają charakteru swoistego, ponieważ podobne zmiany występują w rozmaitych typach glomerulopatii. W związku z tym były przez długi czas uważane za zjawisko marginalne (fot. 21 do 23).

Klasyfikacja glomerulopatii opiera się na zmianach stwierdzanych w obrębie kłębuszków. Jednak ocena rokowania i czynności nerek w kłębuszkowych zapaleniach nerek którą przeprowadzono na podstawie jedynie parametrów kłębuszkowych jest zawodna. Wykonana na takiej podstawie ocena ryzyka rozwoju przewlekłej niewydolności nerek często okazuje się zbyt optymistyczna. Z drugiej strony nawet bardzo zaawansowane zmiany kłębuszkowe nie muszą się wiązać z pogorszeniem czynności nerki, jeśli nie współwystępuje włóknienie podścieliska.

3 Dotychczasowe zastosowania metod ilościowych w nefropatologii

Początkowo w nefropatologii stosowano metody ilościowe oparte na zastosowaniu urządzeń takich, jak mikroskopy projekcyjne, planimetry i tym podobne urządzenia. Metody te są bardzo pracochłonne, chociaż umożliwiają wykonywanie rzetelnych pomiarów. Liczba parametrów ilościowych uzyskiwanych w ten sposób w rozsądnym czasie jest jednak dość ograniczona. Rozwój techniki komputerowej analizy obrazu umożliwił zastosowanie nowych, efektywnych metod zbierania danych ilościowych. Co więcej, staje się coraz bardziej oczywistą potrzeba otrzymywania danych ilościowych łatwiejszych do standaryzacji i dających się porównywać z ilościowymi danymi biochemicznymi. Stąd wzrost zainteresowania metodami histometrycznymi w odniesieniu do nerki.

Zastosowanie metod patologii ilościowej umożliwia wykrywanie subtelnych zmian, których ocena za pomocą jakościowej metodyki morfologicznej może być trudna lub mało wiarygodna. W związku z tym możliwe jest potwierdzenie lub wykluczenie wpływu leków na nerkę, nawet jeśli wpływ ten jest subtelny i nie przejawia się w badaniach czynnościowych. Zachariae i współpracownicy badali zmiany w biopsjach nerek u chorych z łuszczycą leczoną *methotrexatem* i nie dopatrzili się odchyień od normy, co wspiera opinię, wynikającą z badań metodami jakościowymi, że dawki tego leku stosowane w leczeniu łuszczycy nie powodują istotnego

uszkodzenia nerki [208]. Natomiast Young i współpracownicy badali zmiany u chorych na łuszczycę po stosowaniu cyklosporyny i stwierdzili, że w tym wypadku występują wyraźne odchylenia od obrazu prawidłowego [207]. Poveda i współpracownicy [142] badali zmiany podścieliskowe u pacjentów z zespołem nerczycowym leczonych cyklosporyną. Autorom pracy udało się wykazać, że redukcja objętości podścieliska po zastosowanym leczeniu pozwala przewidzieć dobry wynik odległy, to znaczy brak nawrotu objawów po 34 miesiącach od zakończenia leczenia. Brak redukcji objętości podścieliska nerki wiązał się z brakiem odpowiedzi na leczenie lub wczesnym nawrotem zespołu nerczycowego. Gulmann i współpracownicy [64] oceniali skutki stosowania leków przeciwnadciśnieniowych z grupy inhibitorów konwertazy angiotenzyny na strukturę naczyń nerkowych w początkowej fazie cukrzycy typu I. Stwierdzili oni, że mimo uzyskania normalizacji ciśnienia tętniczego krwi, zmiany morfologiczne o charakterze wzrostu macierzy błony środkowej naczynia nie tylko się nie cofały, ale powoli postępowały.

Zastosowanie metod ilościowych w diagnostyce nefropatologicznej jest w obecnej chwili raczej postulatem, niż rzeczywistością, lecz było ono proponowane, między innymi przez Danilewicza [33, 36]. Pomoc w ustaleniu rozpoznania ze strony metodyki ilościowej byłaby szczególnie cenna w przypadkach gdy diagnostyka różnicowa, oparta jedynie na badaniu morfologicznym, jest zawodna. Ta ostatnia sytuacja zachodzi na przykład we wczesnych postaciach ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębków.

Lee [99] zaobserwował wzrost objętości kłębuszków w ogniskowym i segmentalnym stwardnieniu kłębuszków; w związku z tym proponuje się stosowanie tego kryterium do oceny ryzyka rozwoju ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębków w przypadkach w których obraz morfologiczny odpowiada zmianom minimalnym. Podobną propozycję wysunęli Danilewicz i Wągrowaska-Danilewicz [40]. Według Nyberga wzrost objętości kłębuszków kłębuszka ma być nie tylko objawem, ale też uczestniczyć w patogenezie ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębków [125]. Nishimoto i współpracownicy wyodrębnili spośród dwukrotnie biopsjowanych chorych przypadki, w których początkowo rozpoznano glomerulopatię minimalną, a dopiero w ponownej biopsji postawiono rozpoznanie ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków. U chorych tych już w pierwszej biopsji kłębuszki były wyraźnie większe [124]. Analogiczny wzrost objętości kłębuszków nerkowych stwierdziła Wilkosz w przypadkach ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków oraz w niesklasyfikowanych przypadkach kłębuszkowych chorób nerek u dzieci [196]. Wzrost objętości kłębuszków nerkowych był też obserwowany w glomerulopatii błoniastej [98, 182], w ostrym odrzucaniu przeszczepu, a doświadczalnie w modelu śródmiąższowego zapalenia nerek

wywoływanego białkomoczem [50], nefrektomii 5/6 [171], u myszy transgenicznych dla IGF-1 i GH [49] i w modelu kłębuszkowego zapalenia nerek u myszy poddanych działaniu surowicy antytymocytarnej. Podstawowym mechanizmem pojawiania się powiększenia, jak też szkliwienia kłębuszków mają być zaburzenia w funkcjonowaniu systemu GH/IGF-1/IGFBP. Jednak u myszy transgenicznych dla IGFBP-1 wzrost objętości kłębuszków nie występuje, mimo pojawiania się stwardnienia kłębuszków [49]. W przebiegu wielu chorób nerek dochodzi do upośledzenia wewnątrznerkowej autoregulacji ciśnienia krwi, co stwierdzono doświadczalnie w modelach cukrzycy, glomerulopatii Heymanna i subtotalnej nefrektomii. Zniesienie autoregulacji doprowadza do zwiększenia ciśnienia wewnątrz-kłębuszkowego, a także do przenoszenia w obręb kłębuszka wahań obwodowego ciśnienia tętniczego. Wynikiem tych wahań ciśnienia jest zmienne napężanie komórek mezangialnych, co jak wykazano, może pobudzać te komórki do produkcji składników substancji pozakomórkowej, w tym fibronektyny, lamininy, kolagenu typu I, III i IV. Konsekwencją jest powiększenie kłębuszków [27, 30]. Powiększenie kłębuszków nerkowych może cofać się po stosowaniu leków blokujących kanały wapniowe. Oddziaływanie przeciwdziałające powiększaniu kłębuszków może zależeć od ograniczenia proliferacji komórek mezangium i produkcji przez nie substancji podstawowej i ma być składnikiem nefroprotekcynowego mechanizmu działania tej grupy leków. Według Howiego i współpracowników powiększenie kłębuszka może powodować wypadanie części pętli naczyniowych w obręb kanalika bliższego i ich mechaniczne uszkodzenie, prowadzące do rozwoju szkliwienia [67].

W inny sposób do rozpoznawania wczesnych przypadków ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębków podeszli Woźniak i współpracownicy [198, 199, 201]. Autorzy ci na podstawie obrazów ultrastrukturalnych badali stosunek powierzchni przekroju komórek mezangialnych do powierzchni zajmowanej przez macierz mezangium. Stwierdzili, że przyrost macierzy w przypadkach ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębków jest szybszy w niż w innych nefropatiach. Związek pomiędzy proliferacją komórek a produkcją macierzy mezangialnej sugerują badania doświadczalne, zwłaszcza iż wiadomo, że czynniki hamujące proliferację komórek powodują także zmniejszenie przyrostu macierzy [28, 49].

Komputerowa analiza obrazu może pomóc w stwierdzeniu homogenności bądź heterogenności jednostek chorobowych. Stwierdzenie homogenności bądź heterogenności zmian morfologicznych nie powinno być stosowane jako jedyne kryterium określania jednostek chorobowych. Jednak może stanowić cenny argument pomocniczy. Na przykład Danilewicz i Wągrowska-Danilewicz próbowali wykazać jednolitość choroby gęstych złogów i błoniasto-rozplemowego kłębuszkowego zapalenia nerek [33]. Stwierdzili też brak różnic

ilościowych pomiędzy chorobą Bergera a mezangialno-rozplelowym kłębuszkowym zapaleniem nerek i na tej podstawie wysuwają pogląd, że mezangialno-rozplelowe kłębuszkowe zapalenie nerek może być w rzeczywistości wariantem nefropatii IgA [39]. Ci sami autorzy na podstawie pomiarów cech morfologicznych w obrazie mikroskopowym i ultrastrukturalnym nie stwierdzili istotnych różnic pomiędzy nefropatią IgA a plamicą Shoenleina-Henocha [42, 44]. Wyniki te znalazły w ostatnich latach potwierdzenie w badaniach patogenetycznych. Razga i współpracownicy porównywali zmiany w drobnych naczyniach nerkowych w przebiegu choroby Bergera i nadciśnienia pierwotnego. Autorzy stwierdzili, że zmiany te istotnie się różnią [143]. Jest to argument przeciw pojawiającej się, skrajnej opinii, jakoby nadciśnienie pierwotne miało być ściśle związane etiopatogenetycznie z nefropatią IgA.

Także w wypadku badania patogenezy chorób wyniki badań ilościowych mogą być użyteczne jedynie pośrednio. Niekiedy mogą stanowić dodatkowy argument na rzecz istnienia określonych mechanizmów powstawania schorzeń. I tak Ting i współpracownicy badali czynniki prowadzące do zmniejszenia filtracji w przebiegu glomerulopatii błoniastej. Za pomocą oceny stereometrycznej obrazu mikroskopowo-elektronowego stwierdzili wzrost powierzchni filtracyjnej błony podstawnej kapilar kłębuszkowych, co wraz z wynikami badań czynnościowych, wskazującymi na podwyższenie ciśnienia filtracyjnego w kłębuszku, doprowadziło do wniosku, że przyczyną obniżenia wydolności nerek w glomerulopatii błoniastej jest zmiana właściwości samej błony podstawnej [182].

Metody ilościowe mogą też pomóc w wypracowaniu i uściśleniu kryteriów diagnostycznych i ustaleniu, które zmiany morfologiczne są najbardziej charakterystyczne dla badanej jednostki chorobowej. Klasyfikacja chorób kłębuszkowych według Światowej Organizacji Zdrowia wykazuje zadowalającą powtarzalność, jednak dla dalszej standaryzacji, oraz dla polepszenia oceny rokowania, metody ilościowe mogą być wysoce użyteczne. Sawai i współpracownicy analizowali morfologię nerek w przebiegu mieszanej choroby tkanki łącznej. W materiale tym wykazali szczególnie znaczące zmiany w tętnicach pozakłębkowych, w postaci pogrubienia błony wewnętrznej. Zmiany te różniły się znacząco od zmian występujących w grupie porównawczej, złożonej z chorych z toczeniem rumieniowatym trzewnym i twardziną uogólnioną [162].

Wysoka czułość patologii ilościowej, powtarzalność i wiarygodność wyników powodują, że jest to metoda często używana w badaniach doświadczalnych. Ścisłe kontrolowanie warunków eksperymentu zapewnia wysoką i jednakową jakość otrzymanego materiału, a z drugiej strony, otrzymane wyniki ilościowe mogą być łatwo porównywane z danymi biochemicznymi czy innymi pomiarami parametrów fizjologicznych.

Sassy-Prigent przedstawił wyniki badań nad rozwojem glomerulopatii w doświadczalnej cukrzycy u szczurów indukowanej streptozotocyną [161]. Dzięki zastosowaniu systemu analizy obrazu autor był w stanie wykazywać istnienie już bardzo wczesnych zmian i ściśle śledzić ich rozwój. Dzięki temu możliwe było stwierdzenie, że inhibitory konwertazy angiotenzyny nie tylko powodują normalizację parametrów laboratoryjnych, ale także ustąpienie zmian morfologicznych.

Shimokama i współpracownicy badali za pomocą metod ilościowych zmiany w nerkach myszy Tsukuba. Zwierzęta te, transgeniczne dla ludzkiej reniny i angiotenzyny, miały stanowić model rozwoju nadciśnienia złośliwego u człowieka. Zastosowanie metody ilościowej pozwoliło autorom na poznanie dynamiki zmian w tym nowo opracowanym modelu. Autorzy stwierdzili, że zmiany u opisywanych zwierząt stanowią adekwatne przybliżenie zmian nerkowych w nadciśnieniu złośliwym. W związku z tym możliwe będzie zastosowanie myszy Tsukuba do badania skuteczności nowych leków mających znaleźć zastosowanie w tej jednostce chorobowej [172].

Okada i współpracownicy [129] badali zmiany w nerkach noworodków szczurzych, których matki poddano w czasie ciąży jednostronnej nefrektomii. Ideą przewodnią prac tych autorów było przypuszczenie, że nefrektomia, dająca pogorszenie biochemicznych parametrów wydolności nerki u ciężarnych samic szczurów, powoduje przyspieszenie rozwoju nerki płodowej. Wyniki przeprowadzonych przez nich badań wykazały, że w grupie doświadczalnej bezpośrednio po urodzeniu występuje zwiększona ilość zarówno dojrzałych, jak i niedojrzałych kłębuszków nerkowych; kłębuszki te miały znamienne większą objętość. Współistniały też różnice w rozmiarach kanalików bliższych, w postaci wzrostu zarówno średnicy zewnętrznej, jak też światła. Po 18 dniach od urodzenia następowało zbliżenie wszystkich mierzonych parametrów do wartości stwierdzanych w grupie kontrolnej, z wyjątkiem zwiększenia łącznej objętości dojrzałych kłębuszków. Akaoka i współpracownicy [1] wykazali zjawisko o analogicznym charakterze u dzieci z nefropatią refluksową; zwiększeniu pola przekroju kłębuszka towarzyszyło zwiększenie ilości kapilar oraz pola przekroju mezangium, natomiast nie występował statystycznie istotny wzrost średniej powierzchni przekroju kapilar ani odsetka pola kłębuszka zajętego przez mezangium.

4 O zmianach pozakłębkowych w kłębuszkowych zapaleniach nerek, ich patogenezie i znaczeniu w progresji niewydolności nerek

Patogeneza zmian podścieliskowo-kanalikowych w chorobach nerek jest niejako stereotypowa i podobna w różnych chorobach, jak na przykład przewlekłe zmiany wywołane czasowym

niedokrwieniem, nefropatia refluksowa, zmiany w obrębie nerki przeszczepionej, czy wreszcie kłębuszkowe zapalenia nerek. Mechanizm zmian można podsumować następująco:

- 1) czynnik uszkodzający powoduje aktywację komórki nabłonka kanalikowego,
- 2) występuje aktywacja komórek podścieliska z uzyskaniem przez nie fenotypu miofibroblasta (fot. 24, 25),
- 3) komórki miofibroblastyczne produkują składniki substancji pozakomórkowej, co wyraża się widocznym histologicznie i mierzalnym zwiększeniem ilości podścieliska (fot. 21 do 23).

Głównymi mediatorami w tych procesach są TGF- β i PDGF.

4.1 Mechanizmy pojawiania się i rozwoju zmian podścieliskowo-kanalikowych

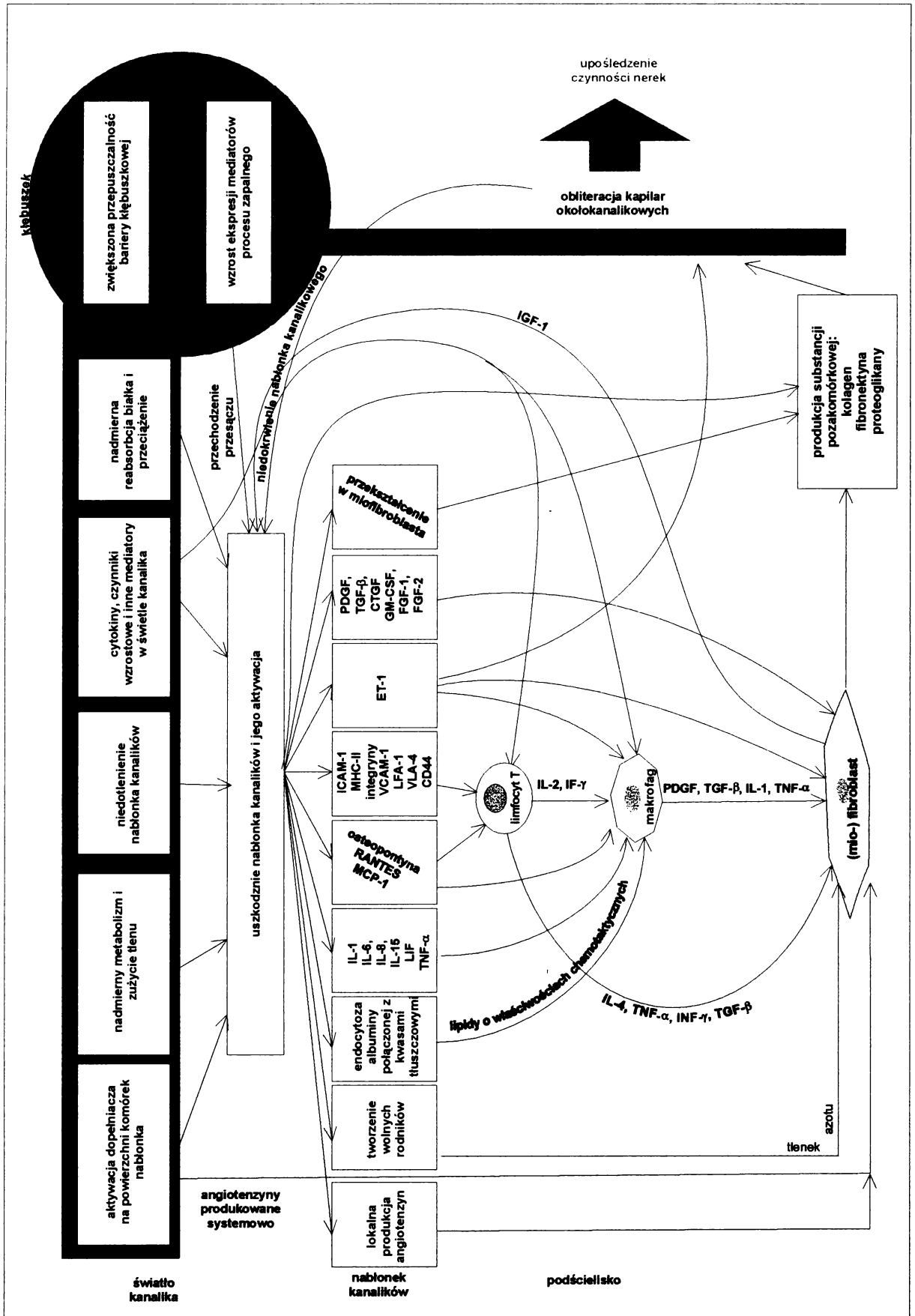
Przyczyny występowania zmian w składnikach pozakłębuszkowych są złożone (Rycina 1, strona 14) i nie są do końca wyjaśnione, ale postuluje się głównie [31, 68, 71, 120, 121, 130, 144]

- przechodzenie cytokin i innych mediatorów z kłębuszka do światła kanalika i do podścieliska,
- uszkodzające działanie nadmiaru białka na nabłonek kanalikowy,
- upośledzenie ukrwienia i utlenowania poprzez zmniejszenie przekroju pozakłębuszkowych kapilar [18, 103, 105, 106, 127],
- przeciążenie metaboliczne pozostałych, nieuszkodzonych nefronów,
- odkładanie immunoglobulin lub kompleksów immunologicznych w obrębie kanalików,
- reakcję typu komórkowego, w tym przechodzenie komórek efektorowych z obszaru mezangium do podścieliska [28, 116, 121, 139],
- przerwanie ciągłości kanalika które może powodować dostawanie się do podścieliska białka Tamm-Horsfalla, co wywołuje rekrutację i aktywację komórek zapalnych [28, 32, 120].

W moczu pacjentów z kłębuszkowymi chorobami nerek zwiększa się poziom cytokin, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β . Przechodzenie cytokin i innych mediatorów z kłębuszka do kanalika i śródmiąższu powoduje indukcję odpowiedzi immunologicznej typu komórkowego [4, 32, 139, 165, 204]. Wśród substancji które mają działać w ten sposób wymienia się IL-1, która ma indukować ekspresję ICAM-1 i VCAM w nabłonku kanalikowym. Inne mediatory to TNF- α , IL-6 i LIF [204]. Konsekwencją może być pojawienie się procesu zapalnego, zapoczątkowywanego przez odczyn immunologiczny o charakterze komórkowym [4, 32, 116]. Pewną rolę może też odgrywać opisywane w modelach ogniskowego i segmentalnego szkliwienia kłębuszków przechodzenie przesączu o nieprawidłowym składzie w wyniku uszkodzenia podocytów do przestrzeni okołokłębuszkowej i okołokanalikowej [91].

Najważniejszym czynnikiem uszkadzającym w przewlekłych kłębuszkowych chorobach nerek ma być obecność białka w moczu. Co ciekawe, w wielu opracowaniach stopień białkomoczu jest także najsilniejszym klinicznym czynnikiem prognostycznym w kłębuszkowych zapaleniach nerek, podczas gdy najsilniejszym prognostycznym czynnikiem histologicznym są zmiany podścieliskowe [32, 83, 128, 195]. Zagadnienie to badali Eddy i współpracownicy [50]. Na modelu szczurzym wykazali zależność nasilenia nacieków śródmiąższowych oraz stopnia uszkodzenia kanalików od poziomu białka w moczu. Autorzy nie wyjaśniali mechanizmów opisywanych zjawisk, jednak są one znane z innych prac. Wysoka zawartość białka w przesączu na terenie kanalików ma działać poprzez [32, 66, 120, 130, 144, 165]:

- intensywne reabsorpcja białka z przesączu kanalikowego, powodująca przeciążenie komórek kanalikowych,
- zwiększone pochłanianie albuminy przez nabłonek kanalików, co powoduje podwyższoną produkcję mediatorów lipidowych o właściwościach chemotaktycznych,
- pojawienie się wysokiego stężenia składników dopełniacza w moczu, co umożliwia aktywację dopełniacza na drodze alternatywnej na powierzchni rąbka szczoteczkowego kanalików,



Rycina 1. Najważniejsze mechanizmy biorące udział w patogenezie zmian pozakłębuszkowych w przebiegu kłębuszkowych chorób nerek.

Wzorowane na G. D'Amico [31], zmienione i uzupełnione.

- zwiększona produkcja amoniaku na skutek wzmożonego metabolizmu w komórkach kanalikowych, co powoduje aktywację dopelniacza,
- zwiększone wydzielanie do moczu transferryny co wiąże się ze zwiększeniem stężenia żelaza i generacją toksycznych jonów hydroksylowych,
- interakcję wysokiego stężenia białka z białkiem Tamm-Horsfalla, co prowadzi do zablokowania światła kanalików,
- przedostawanie się do przesączu składników błony podstawnej kłębuszka przy uszkodzeniu podocytów.

Według Peruzziego i współpracowników [137] działanie wysokiego stężenia albuminy na hodowlę komórek nabłonka kanalików bliższych ma prowadzić do pojawienia się na ich powierzchni integryny $\alpha\beta 5$. Autorzy cytowanej pracy stwierdzili ten efekt zarówno w hodowlach komórkowych jak na materiale biopsyjnym, w przypadkach glomerulopatii przebiegających z białkomoczem. W normalnych warunkach komórki kanalikowe mają wykazywać obecność jedynie integryn $\alpha\beta 1$ i $\alpha\beta 3$, natomiast nie $\alpha\beta 5$. Ta zmiana fenotypu, wynikająca ze wzrostu stężenia białka w świetle kanalika, miałyby indukować sekwencję dalszych zjawisk patologicznych na terenie podścieliska. Rolę integryn, w szczególności $\alpha\beta 1$, w progresji glomerulopatii potwierdzają także wyniki uzyskane przez Wągrowską-Danilewicz i Danilewicza [46].

Inną przyczyną uszkodzenia komórek nabłonka kanalików, niezależną od obecności białkomoczu, jest ujawnienie się oddzielonych do krwiobiegu antygenów, lub też pojawienie się nowych [32, 120, 144, 178].

Uszkodzenie kanalików nerkowych w kłębuszkowych zapaleniach nerek może być stwierdzone morfologicznie, w postaci wzrostu liczby mitoz i przejściowego pojawienia się ekspresji wimentyny. Takie zmiany profilu immunohistochemicznego, będące wyrazem aktywacji, występują także w podocytach, a zwłaszcza w komórkach mezangium, które nabierają cech miofibroblasta, z pojawieniem się elementów kurczliwych i równoczesną produkcją substancji pozakomórkowej. Nadciśnienie wewnątrz-kłębuszkowe może także indukować w obrębie komórek mezangium ekspresję molekuł adhezyjnych, takich jak ICAM-1. Efekt ten łączy nieimmunologiczne i immunologiczne drogi uszkodzenia kłębuszka [147].

Zagadnienie pojawiania się ekspresji wimentyny w komórkach nabłonka kanalikowego badał Grone [63], głównie w kontekście genety jasnokomórkowego raka nerki. Autor ten stwierdził pojawianie się tego filamentu pośredniego w komórkach nabłonka kanalika nerki zarówno w ostrym doświadczalnym uszkodzeniu nerki, jak i u ludzi, w przebiegu przewlekłych chorób nerek. Zmianę fenotypu komórki nabłonka kanalikowego uznał jedynie za konsekwencję, a nie

za element patogenezы sklerotyzacji nerki. NB, ekspresja wimentyny występuje także w rozwoju płodowym komórek nabłonka, a więc jej pojawienie się jest powrotem do fenotypu niżej zróżnicowanego. Nakatsuji i współpracownicy wykazali, że komórki nabłonka kanalikowego wimentyno-dodatnie, a równocześnie PCNA dodatnie, a więc proliferujące, produkują PDGF i osteopontynę, czemu towarzyszy pojawienie się w podścielisku nerki miofibroblastów [117].

Komórki nabłonka kanalików mają wykazywać czynność komórek prezentujących antygen i to zarówno w stosunku do substancji obcych, jak i autoantygenów. Komórki te wykazują konstytucyjną, niewielką ekspresję MHC-II. Ten niski poziom ekspresji jest zwiększany przez takie mediatory, jak INF- γ . Wzrost ekspresji MHC-II może prowadzić do uaktywnienia się mechanizmów immunologicznych o charakterze odczynowego komórkowego. Na powierzchni komórek nabłonka kanalikowego występuje też szereg molekuł adhezyjnych, jak ICAM-1 i VCAM-1. Komórki te produkują też szereg biologicznie czynnych substancji jak cytokiny, w tym MCP-1, RANTES, IL-8, LIF, czynniki stymulujące limfocyty T (IL-6, IL-2 i IL-15), i chemotaktyczne (G-CSF, MCP-1, PDGF, TGF- β , IL-6, IL-8, osteopontyna) oraz aktywujące leukocyty (TNF- α , IL-1, IL-6) [62, 144, 178].

Ekspresję cząstek adhezyjnych w kłębuszkowych zapaleniach nerek u człowieka badali Roy-Chaudhury i współpracownicy [155, 156]. Stwierdzili ekspresję LFA-1, VLA-4, L-selektyny, ICAM-1 i VCAM-1 w obrębie nabłonka kanalików i śródmiaższu, związaną z naciekami zapalnymi w obrębie podścieliska. Przyczyną pojawienia się ekspresji ICAM-1 może być działanie INF- γ . Pojawianie się molekuł adhezyjnych w obrębie nabłonka kanalików wykazywało związek z zaawansowaniem przewlekłych zmian histologicznych. Z drugiej strony Eddy i współpracownicy nie wykazali w obrębie komórek nabłonka kanalikowego zwiększonej ekspresji mRNA dla MCP-1, ICAM-1 i VCAM-1 w modelu nefropatii indukowanej białkomoczem; wzrost ilości tych substancji miał według tych autorów zależeć głównie od ich obecności w komórkach nacieku zapalnego [51].

Jednym z łatwo zauważalnych składników zmian pozakłębuszkowych w przebiegu kłębuszkowych chorób nerek są nacieki podścieliskowe. Niewielką ilość makrofagów można stwierdzić w śródmiaższu nerki w warunkach prawidłowych, natomiast znacznie większą - w stanach patologicznych [100]. Nacieki podścieliskowe mają pełnić istotną rolę w powstawaniu innych zmian pozakłębuszkowych. W większości przypadków składają się one z makrofagów i komórek limfoidalnych, w tym głównie limfocytów T. Komórki te wykazują cechy aktywacji, takie jak ekspresja antygenów MHC-II czy ICAM-1 [32]. Powszechnie przyjęty pogląd na pochodzenie makrofagów w podścielisku głosi, że komórki te pojawiają się w obrębie zmienionej zapalnie nerki głównie przez rekrutację z krwiobiegu. Jednak w ostatnich latach

dowodzono w wielu stanach zapalnych, że istotnym źródłem makrofagów jest ich miejscowa proliferacja. Może tak być także w nerce, jak wykazali Lan i współpracownicy [93] na materiale glomerulopatii szczurzej wywołanej przeciwciałami przeciwko błonom podstawnym kapilar kłębuszka. Autorzy ci stwierdzili, że głównym źródłem makrofagów w tym modelu jest proliferacja komórek pochodzących z krwi obwodowej. Przypuszczalnie stymulatorem rozplemu makrofagów jest głównie M-CSF, a być może także $\text{INF-}\gamma$. Akikusa i współpracownicy [2] badali zmiany zapalne podścieliska (nacieki podścieliskowe), oraz kanalików nerkowych (*tubulitis*) w biopsjach od pacjentów z wieloukładowymi zapaleniami naczyń. Autorzy ci stwierdzili, że w pewnym zakresie nasilenie nacieków zapalnych wiąże się z zaawansowaniem zmian kłębuszkowych. Nacieki pozakłębuszkowe nie dawały się jednak całkowicie wytłumaczyć bezpośrednim szerzeniem się nacieków zapalnych pochodzących z kłębuszków, bo występowały również w przypadkach bez zmian kłębuszkowych. Autorzy wykazali również ścisły związek pomiędzy zmianami podścieliskowo-kanalikowymi a wynikami badań laboratoryjnych oceniających uszkodzenia kanalików. Na podstawie modeli doświadczalnych można wysunąć przypuszczenie, że pojawienie się w podścielisku nerki nacieków złożonych z makrofagów zależy do działania limfocytów T zarówno typu $\alpha\beta$ jak i $\gamma\delta$ [133]. Jednym z ważnych czynników odpowiedzialnych za nacieki komórkowe są chemokiny. Antagoniści receptorów dla chemokin redukują nacieki zapalne i odkładanie kolagenu, być może w części poprzez wpływ na wydzielanie $\text{TGF-}\beta$. W modelu szczurzym kłębuszkowego zapalenia nerek wykazano zwiększoną ekspresję niektórych chemokin CC i ich receptorów. Sugeruje się rolę komórek nabłonka kanalików nerkowych w produkcji chemokin, indukowaną wydzielaniem do moczu białka, dopełniacza, lipoprotein a także nieprawidłowych metabolitów jak wolne rodniki tlenowe. Według Furuichiego działanie chemokin ma być bezpośrednio odpowiedzialne za rozwój zmian podścieliskowych w przebiegu glomerulopatii. Podobnie zwiększoną ekspresję chemokiny MCP-1 stwierdzono u ludzi w glomerulopatii błoniastej. W późniejszej fazie procesu chorobowego źródłem chemokin miałyby się stawać same komórki nacieku zapalnego [56, 133, 163].

Zwiększenie ilości substancji pozakomórkowej może mieć miejsce zarówno na drodze zwiększenia produkcji jej składników, jak też obniżonego katabolizmu. Zmniejszona resorpcja substancji pozakomórkowej ma wynikać z działania tkankowego inhibitora metaloproteaz 1, lub inhibitora aktywatora plazminogenu [51, 89]. Głównymi producentami substancji pozakomórkowej w podścielisku nerki mają być miofibroblasty. W przebiegu chorób kłębuszkowych wykazują one cechy aktywacji, co wyraża się między innymi pojawieniem się ekspresji desminy [8]. Pochodzenie miofibroblastów śródmiąższu nerki nie jest do końca

wyjaśnione. Tradycyjnie przyjmuje się: 1) zmianę fenotypu fibroblastów podścieliska, 2) miejscową proliferację, 3) rekrutację z otoczenia naczyń krwionośnych [100].

Istnieją też argumenty za alternatywnymi źródłami pochodzenia miofibroblastów. W pracy Ng i współpracowników [123] wskazano też na zmianę kierunku zróżnicowania komórek nabłonka kanalika, głównie bliższego. Autorzy ci wykazali w modelu subtotalnej nefrektomii u szczurów, pojawianie się w komórkach nabłonka kanalików ekspresji α -aktyny, a także zmiany strukturalne upodobniające komórki nabłonkowe do komórek mezenchymalnych. Zmiana fenotypu komórek nabłonka kanalikowego wykazywała związek zarówno z liczbą miofibroblastów podścieliska, jak i z upośledzeniem funkcji nerki. Co ciekawe, zmiany te były najwyraźniejsze w miejscach uszkodzenia błony podstawnej kanalika. Mediatorem odpowiedzialnym za przekształcanie komórek nabłonka kanalikowego w miofibroblasty ma być TGF- β [53].

Argumentem na rzecz nabłonkowego pochodzenia miofibroblastów podścieliska nerki może być publikacja Nadasdy, który wykazał, że w schyłkowej fazie niewydolności nerek w podścielisku istnieją izolowane komórki o markerach nabłonkowych. Obecność tych komórek autor tłumaczy albo pozostałościami kanalików, albo występowaniem wtórnego różnicowania nabłonkowego w obrębie komórek podścieliska. Autor nie wypowiada się natomiast o ewentualnej koekspresji markerów mięśniowych (miofibroblastycznych) przez izolowane komórki nabłonkowe. Przeważnie jednak tłumaczy się przestrzenną bliskość miofibroblastów i aktywowanych komórek nabłonka kanalików wytwarzaniem przez te ostatnie mediatorów pro-miofibroblastycznych [117].

Stymulacja fibroblastów podścieliska może pochodzić zarówno od komórek nacieku zapalnego (działanie poprzez TGF- β , IL-4), jak i aktywowanego nabłonka kanalików (działanie poprzez TGF- β , GM-CSF), czy wreszcie autokrynnej stymulacji [62]. Obok zwiększonej proliferacji i produkcji substancji zewnątrzkomórkowej, w bliznowaceniu nerki bierze rolę modulacja produkcji kolagenów: wzrost ilości kolagenu typu III i I, a spadek wytwarzania kolagenu typu IV. Ma to powodować przebudowę błon podstawnych kanalików czemu z kolei towarzyszy zanik nabłonka. Raz rozpoczęty proces zaniku i włóknienia pozostaje procesem samonapędzającym, także na skutek autokrynnej stymulacji fibroblastów [62]. Dodatkowym nieimmunologicznym czynnikiem dalszej progresji bliznowacenia nerki jest włóknienie podścieliska zamykające kapilary pozakłębuszkowe, i powodujące niedokrwienie [32].

W licznych procesach patologicznych kluczowym mediatorem włóknienia jest TGF- β ; innymi są PDGF, bFGF, TNF- α , IL-1. W obrębie kłębuszka nerkowego istotnymi mediatorami proliferacji komórek są produkowane przez płytki krwi PDGF, bFGF, IGF-1 i 2 oraz produkowane przez makrofagi PDGF, TGF- β , IL-1, TNF- α , IL-6 i bFGF. Do najistotniejszych

należy PDGF, działający także autokrynnie, jako że produkowany przez same komórki mezangium [21]. W modelu mysim kłębuszkowego zapalenia nerek z półksiężycami występuje wzrost poziomu receptora PDGF [131]. Także w obrębie komórek fibroblastycznych podścieliska nerki wykazano obecność receptora dla PDGF [178]. Ostendorf i współpracownicy wykazali, że wyłączenie działania PDGF za pomocą swoistych antagonistów blokuje rozwój kłębuszkowego zapalenia nerek indukowanego działaniem surowicy antytymocytarnej. Co więcej, autorzy cytowanej pracy stwierdzili brak zwiększonej ekspresji TGF- β w podścielisku nerki, a także niepojawianie się zmian podścieliskowo-kanalikowych. Sugeruje to pierwotną rolę PDGF w powstawaniu bliznowacenia śródmiąższu nerki w tym modelu [132]. W różnych kłębuszkowych chorobach nerek rola poszczególnych czynników wzrostowych i cytokin może być rozmaita. I tak na przykład o ile PDGF pełni istotną rolę w modelu kłębuszkowego zapalenia nerek typu Heymanna, to w ludzkiej glomerulopatii błoniastej uczestniczyć ma jedynie TGF- β . PDGF ma być natomiast ważnym składnikiem patogenezy kłębuszkowych zapaleń nerek z istotnym składnikiem proliferacyjnym, jak błoniasto-rozplemowe albo mezangialno-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek czy choroba Bergera [30, 132]. U szczurów transgenicznym dla TGF- β występuje wybitne zwiększenie produkcji składników podścieliska przez komórki mezangium, z ich towarzyszącą umiarkowaną proliferacją; przy zwiększeniu ekspresji PDGF występuje proliferacja komórek mezangialnych z towarzyszącym przyrostem macierzy [72].

Współwystępującym czynnikiem w działaniu TGF- β ma być także zwiększona ekspresja jego receptorów. Co ciekawe, ekspresja receptora TGF- β w nefropatii minimalnej jest identyczna jak w nerce zdrowej. Inny dowód na rolę TGF- β przynosi praca Bordera i współpracowników, którzy wykazali, że zablokowanie czynności TGF- β przy pomocy *decorin* powoduje istotną redukcję włóknienia w modelu antytymocytarnej kłębuszkowego zapalenia nerek [20]. Potwierdzono też wzrost mRNA dla TGF- β w modelu z nefropatii indukowanej białkomoczem [51]. Jednym z pośredników działania TGF- β ma być *connective tissue growth factor* (CTGF). Wykazano wyraźny wzrost ekspresji CTGF w przewlekłych nefropatiach o znacznym składniku zapalnym, który to wzrost korelował z bliznowaceniem oraz z proliferacją komórek, zarówno w podścielisku jak na terenie kłębuszka. Produkcja CTGF ma mieć miejsce głównie w obrębie miofibroblastów śródmiąższu i ma być indukowana przez TGF- β . Według Ito i współpracowników CTGF jest odpowiedzialny z proliferację komórek, jak i odkładanie takich substancji jak kolagen I, fibronektyna, α 5 integryna [54, 73]. Wu i współpracownicy [203] wykazali w glomerulopatii błoniastej zwiększoną w porównaniu z innymi kłębuszkowymi zapaleniami nerek ekspresję TNF- α . Ekspresja IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-8 i IL-10 była w obu grupach podobna. NB, IL-10 moduluje i ogranicza odpowiedź zależną od limfocytów Th₁ w

modelu kłębuszkowego zapalenia nerek wywoływanego przeciwciałami skierowanymi przeciwko błonie podstawnej kapilar kłębuszkowych u szczurów [88]. Ponadto wykazali w części przypadków glomerulopatii minimalnej cechy aktywacji obwodowych limfocytów w postaci zwiększonej ekspresji IL-4, co nie występowało w glomerulopatii błoniastej. W mezangialno-rozplemowym kłębuszkowym zapaleniu nerek u ludzi występuje wzrost ekspresji TGF- β [205].

Sygnalizacja pomiędzy komórkami nabłonka kanalików, a (mio-) fibroblastami śródmiąższu nerki ma charakter dwustronny; komórki nabłonka powodują, poprzez TGF- β i PDGF aktywację czynności i proliferację fibroblastów, natomiast te ostatnie poprzez IGF-1 mają aktywować komórki nabłonka [121]. Z drugiej strony rola IGF-1 nie jest jednoznaczna, bo w modelu nefropatii refluksowej ma hamować aktywację komórek nabłonka kanalikowego, (mio-)fibroblastów podścieliska, a także odkładanie kolagenu [24].

Jak wynika z danych doświadczalnych, w wywoływaniu odpowiedzi proliferacyjnej komórek kanalikowych na uszkodzenie ma brać udział czynnik wzrostu hepatocytów (HGF) [74]. Rolę HGF wykazano *in vivo*, w modelach częściowej nefrektomii, i regeneracji po przebytej ostrej niezapalnej niewydolności nerek. Z drugiej strony, produkowany przez komórki nabłonka kanalikowego HGF ma mieć działanie na produkcję substancji podstawowej podścieliska przeciwstawne do działania TGF- β [114].

Schaefer i współpracownicy [164] wykazali zwiększoną ekspresję proteoglikanów tkanki łącznej - decorin i biglycan oraz ich receptorów w kłębuszkach oraz, co istotniejsze, w podścielisku nerki w szczurzym modelu ostrego i przewlekłego zapalenia nerek. Związki te mają uczestniczyć we włóknieniu nerek mediowanym przez TGF- β .

Istotnym pośrednikiem w powstawaniu zmian podścieliskowo-kanalikowych w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek ma być osteopontyna [51, 119, 128, 144, 165]. Jest to glikoproteina produkowana stale przez komórki nabłonka kanalików. Jej produkcja może być nasilona przez podanie angiotenzyny II, oraz przez działanie TNF- α , IL-1, TGF- β i 1, 25(OH) $_2$ witaminy D3. Osteopontyna jest czynnikiem chemotaktycznym i wykazuje właściwości adhezyjne dla makrofagów. Zwiększona ekspresja osteopontyny występuje w modelach doświadczalnych takich chorób jak kłębuszkowe zapalenie nerek z półksiężycami i toczeń rumieniowaty trzewny [131]. Zachodzi tu korelacja pomiędzy poziomem osteopontyny a aktywnością procesu, w tym z intensywnością nacieków histiocytarnych. Lokalizacja nacieków podścieliskowych zgadza się z lokalizacją zwiększonej ekspresji osteopontyny w nabłonku kanalikowym. Co więcej występowanie morfologicznie uchwytanych zmian podścieliskowo-kanalikowych jest poprzedzane pojawieniem się ekspresji osteopontyny. Może

więc być osteopontyna pośrednikiem pomiędzy cytokinami, czynnikami wzrostowymi i hormonalnymi produkowanymi w kłębuszkach w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek a zmianami w podścielisku [28]. Według Panzera i współpracowników w przebiegu doświadczalnego *glomerulonephritis* osteopontyna ma być głównym czynnikiem chemotaktycznym we śródmiąszu [134]. Podobne zjawiska zostały opisane także na w przebiegu kłębuszkowych chorób nerek u człowieka [128].

Receptorem zarówno dla kwasu hialuronowego jak i dla osteopontyny jest CD44. CD44 występuje na powierzchni błony komórkowej nabłonka kanalika bliższego i dalszego w zdrowej nerce, a w stanach chorobowych jej ekspresja zwiększa się. Takazoe i współpracownicy wykazali obecność w nerce szczurzej wariantu CD44V6. CD44V6 charakteryzuje się powinowactwem nie tylko do kwasu hialuronowego i osteopontyny ale także do siarczanu chondroityny oraz heparanu i w związku z tym może różnić się funkcją od postaci standartowej. Ekspresja CD44V6 w obrębie nabłonka kanalikowego kory nerki zwiększa się w stanach patologicznych, w modelach kłębuszkowego zapalenia nerek wywołanego podaniem przeciwciałami skierowanymi przeciwko błonie podstawnej lub zamknięciem dróg moczowych. Ten wzrost ekspresji widoczny jest zwłaszcza w polach uszkodzenia podścieliskowo-kanalikowego. Ekspresja CD44, zarówno wariantu standartowego jak i V6 ma zależeć od IL-1 i TGF- β . Rola CD44 i CD44V6 w patogenezie chorób nerek u ludzi nie jest jednak udowodniona [180].

W doświadczalnych modelach glomerulopatii obrębie fibroblastów podścieliska występuje także wzrost ekspresji SPARC. Wzrost ten poprzedza i w dużym stopniu koreluje z produkcją kolagenu I, a więc z włóknieniem podścieliska. Produkcja SPARC jest szczególnie silnie wyrażona w otoczeniu kanalików nerkowych wykazujących cechy zaniku [140].

Bardzo ważnym mediatorem w patogenezie kłębuszkowych chorób nerek są angiotenzyna II i III. Znaczenie osi renina-angiotenzyna-aldosteron w regulacji ciśnienia tętniczego krwi jest powszechnie znane. W ostatnich latach okazało się, że angiotenzyna uczestniczy w patogenezie pierwotnych chorób nerek, oddziałując na komórki mezangialne i na fibroblasty podścieliska nerki. W obrębie kłębuszka angiotenzyna ma zmniejszać selektywność filtracji. [144]. Jak wspomniano, niska selektywność białkomoczu nasila zmiany w obrębie śródmiąszu. Stwierdzono, że nerce angiotenzyna powoduje indukcję proto-onkogenu c-fos o działaniu proliferacyjnym. Ponadto występuje wzrost ekspresji genu dla TGF- β oraz wzrost produkcji fibronektyny i innych składników substancji pozakomórkowej [138, 157].

Odpowiedź proliferacyjna jest różna w różnych elementach nerki. W komórkach mięśniówki naczyniowej oraz w komórkach mezangium opisywany jest rozrost lub wzrost objętości. W komórkach fibroblastycznych podścieliska nerki następuje proliferacja, podczas gdy w nabłonku

kanalików bliższych przerost [157]. Angiotenzyna powoduje też zmiany w podścielisku w postaci pojawienia się nacieków z makrofagów i włóknienia, oraz kanalikowe w postaci zaniku nabłonka i poszerzenia światła. Komórki fibroblastyczne podścieliska nerki pod wpływem angiotenzyny przyjmują fenotyp miofibroblastyczny [54, 113, 157].

Angiotenzyna może być tworzona i oddziaływać nie tylko systemowo; w ostatnim czasie doceniono rolę miejscowego jej generowania. Ekspresja mRNA dla angiotenzynogenu jest stwierdzana w komórkach nabłonka kanalików i fibroblastach podścieliska nerki, a także w komórkach mezangium. Ekspresja mRNA dla angiotenzynogenu jest zwrotnie zwiększana przez działanie angiotenzyny II i III. Takie lokalne generowanie angiotenzyny ma powodować zmniejszoną kliniczną skuteczność inhibitorów angiotenzyny (iACE) w porównaniu z renoprotekcją oczekiwaną na podstawie wyników badań *in vitro* [113, 157].

Obok "klasycznej" aktywnej angiotenzyny II, czynnikiem uczestniczącym w patogenezie zmian nerkowych ma być też angiotenzyna III, którą początkowo uważano wyłącznie za produkt degradacji. Faktycznie angiotenzyna II stanowi jedynie 5 - 15% aktywności angiotenzyny w nerce, co wynika z dużej aktywności w tym narządzie peptydaz, głównie aminopeptydazy A. W stanach patologicznych aktywność peptydaz wzrasta, ze względu na napływ egzogennych i miejscowych komórek zapalnych. Ponadto w różnych modelach zwierzęcych kłębuszkowych zapaleń nerek wzrasta poziom mRNA dla aminopeptydazy A [157]. Z drugiej strony w kłębuszkowych zapaleniach nerek wykazano niższy niż w grupie kontrolnej poziom reniny [146]. Wymienione czynniki mogą powodować, że w przebiegu pierwotnych chorób nerek rola angiotenzyny III relatywnie wzrasta.

W kłębuszkowych zapaleniach nerek inhibitory konwertazy angiotenzyny (iACE) mają udowodnione korzystne działanie na rokowanie. Część tego oddziaływania bierze się z normalizacji ciśnienia tętniczego, ale przynajmniej w części jest ono niezależne od wartości ciśnienia krwi. Ma się to wiązać z wpływem angiotenzyny na syntezę TGF- β , a także na układ kinin. Ponadto iACE zmniejszają poziom białkomoczu zarówno u człowieka, jak i w modelach doświadczalnych, być może przez oddziaływanie na barierę filtracyjną. Inne leki obniżające ciśnienie tętnicze nie wykazują tak istotnego wpływu ochronnego na nerkę [138, 146, 183].

W nefropatii IgA wykazano wpływ polimorfizmu genu konwertazy angiotenzyny na przebieg choroby. U chorych z allelem D, choroba objawia się wcześniej, a jej progresja w kierunku przewlekłej niewydolności nerek występuje istotnie szybciej niż u pozostałych. Różnice w przebiegu klinicznym są widoczne pomimo braku różnic w wartościach ciśnienia tętniczego krwi pomiędzy obu grupami [113]. Podobny wpływ polimorfizmu ACE na przebieg kliniczny stwierdzono także w innych glomerulopatiach, jak ogniskowe i segmentalne stwardnienie [54].

Van Essen i współpracownicy [52] wykazali także w szeregu innych przewlekłych nefropatii szybszą progresję niewydolności nerek u chorych z fenotypem DD ACE. Chorzy ci, w odróżnieniu od posiadających fenotypy II i ID, nie odnosili korzyści co do utrzymania czynności nerki ze stosowania iACE. Leczenie zarówno β -blokerem, jak i iACE nie pozwoliło na zmniejszenie białkomoczu, mimo uzyskania podobnego jak w pozostałych grupach obniżenia ciśnienia tętniczego.

4.2 Mechanizmy ustępowania i przyczyny długotrwałego utrzymywania się kłębuszkowych zapaleń nerek

Wiele zwierzęcych modeli chorób nerek charakteryzuje się przejściowym i samoograniczającym charakterem zmian, podczas gdy w przewlekłych nefropatiach u ludzi zmniejszenie wydolności nerki ma w wielu wypadkach charakter stale postępujący. Przyczyny utrzymywania się procesu uszkadzającego nerkę pozostają niejasne, mimo poznania bardzo licznych mediatorów nefropatii. W celu wytypowania czynników prowadzących do przewlekłego uszkodzenia nerki, Narita i współpracownicy porównywali ekspresję mRNA u szczurów z nefropatią indukowaną surowicą antytymocytarną z równoczesną jednostronną nefrektomią (proces przewlekle postępujący) jak i bez niej (proces ostry, ustępujący). Wśród genów które charakterystycznie wykazywały ekspresję w przewlekłym procesie chorobowym wymieniają geny inhibitorów proteaz serynowych, receptorów cytokin, osteopontyny. Ekspresja genów dla TGF- β i PDGF nie wykazywała różnic pomiędzy procesem ostrym i przewlekłym, mimo, że substancje te są powszechnie uważane za kluczowe w występowaniu sklerotyzacji i zmian przewlekłych w nerce. Wyniki te można jednak także tłumaczyć długością okresu pomiędzy indukcją choroby, a momentem przeprowadzenia pomiarów [119].

W modelach doświadczalnych kłębuszkowych zapaleń nerek wykazano występowanie ekspresji czynników proliferacyjnych w obrębie kłębuszka nerkowego w początkowej fazie procesu oraz apoptozę jako mechanizm cofania się zmian. Apoptoza dotyczy głównie proliferujących komórek mezangium, co wykazano zarówno *in vitro* jak w modelach doświadczalnych, a także w mniejszym stopniu komórek nacieku zapalnego [10, 89, 108]. Mechanizmy usuwania macierzy pozakomórkowej są słabiej poznane. Może uczestniczyć w nich kolagenaza IV. Obok korzystnego działania apoptozy w gojeniu się zmian rozplemowych, apoptoza ma występować w przebiegu bliznowacenia kłębuszków, między innymi w komórkach mezangialnych, zarówno w modelach doświadczalnych, jak też u ludzi, między innymi w przebiegu ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków, tocznia rumieniowatego trzewnego i w nefropatii IgA [108]. Mechanizmy indukcji apoptozy są nieznane, ale sugeruje się rolę wolnych rodników. *In vitro* apoptoza może być indukowana zmniejszeniem poziomu

czynników wzrostowych, jak też substancjami toksycznymi [10]. Apoptoza uczestniczy też w powstawaniu zaniku kanalików nerkowych. Regeneracja komórek mezangium może zachodzić głównie poprzez migrację komórek spoza kłębuszka, przynajmniej tak dzieje się w niektórych modelach doświadczalnych..

5 Podział kłębuszkowych zapaleń nerek, zastosowane kryteria diagnostyczne, oraz uwagi o patogenezie poszczególnych jednostek chorobowych

Dla celów niniejszej pracy zastosowano klasyfikację opartą na podziale opublikowanym pod auspicjami Światowej Organizacji Zdrowia [26]. Poniżej uwzględniono jedynie jednostki chorobowe które występowały w opracowywanym materiale.

5.1 Glomerulopatia minimalna (GM).

minimal change disease, lipoid nephrosis

W tej jednostce chorobowej w mikroskopie optycznym nie stwierdza się zmian patologicznych w kłębuszkach nerkowych (fot. 6). Jedynie w części przypadków może być obecne niewielkie zwiększenie ilości macierzy mezangium. Zmianą stwierdzaną w obrazie mikroskopowoelektronowym jest spłaszczenie i zlewanie się wypustek stopowatych podocytów. Według niektórych autorów w GM występuje zmniejszenie grubości błon podstawnych kapilar kłębuszka; jednak nie jest to zmiana stała, bo na przykład w pracy Danilewicza różnice z grupą kontrolną nie są istotne statystycznie [43]. W typowych przypadkach w badaniu immunofluorescencyjnym nie stwierdza się na terenie kłębuszków obecności złogów immunologicznych. W cytoplazmie nabłonka kanalików mogą pojawić się lipidy. Śródmiąższ nerki oraz naczynia pozakłębuszkowe nie wykazują istotnych zmian. Obecność znacznego stopnia zmian zanikowych kanalików i włóknienia podścieliska nasuwają konieczność różnicowania z innymi jednostkami chorobowymi, zwłaszcza o ogniskowym charakterze jak ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków. Stosunek tej jednostki chorobowej do GM pozostaje niejasny [40, 99].

GM występuje u chorych w każdym wieku: od wczesnego dzieciństwa do wieku starszego. W materiale pediatrycznym stanowi najistotniejszą przyczynę zespołu nerczycowego. Białkomocz w przebiegu GM jest znaczny, lecz ma charakter białkomoczu wybiórczego, to znaczy dotyczy białek o niższej masie cząsteczkowej. Rokowanie odległe jest bardzo dobre.

Przyczyny GM nie są znane, ale uważa się, że kluczową rolę odgrywają rozpuszczalne czynniki produkowane przez komórki limfoidalne, powodujące utratę ładunku anionowego błony podstawnej, być może przez spadek produkcji siarczanu heparanu. W wyniku tego pojawia się wzrost przepuszczalności błony podstawnej. Czynniki te są określane jako *glomerular permeability factor* (GPF) i *vascular permeability factor* (VPF). Wielu autorów jednoznacznie utożsamia je z VEGF, od którego według innych są one jednak odrębne. Substancje o podobnym działaniu mogą uczestniczyć także w patogenezie innych kłębuszkowych zapaleń nerek. W szczególności zauważono, że bardzo istotnym składnikiem patogenezy obrzęku w zespole

nerczycowym jest wzrost przepuszczalności obwodowego łożyska naczyniowego. Jak wykazano, możliwe jest doświadczalne indukowanie białkomoczu przez podanie osocza, a także przenoszenie osoczowego czynnika wywołującego białkomocz przez łożysko do płodu [13, 85, 90, 151].

Obok typowej GM można spotkać przypadki z obecnością niewielkich ilości immunoglobulin na terenie kłębuszka. Tacy pacjenci w znacznym odsetku przypadków mają wykazywać niezadowalającą odpowiedź na leczenie glikokortykosterydami, skłonność do nawrotów, lub pojawianie się w trakcie przebiegu choroby przewlekłego upośledzenia czynności nerki. Stosunek takich przypadków do innych chorób kłębuszków nerkowych, szczególnie ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków, pozostaje niewyjaśniony.

5.2 Segmentalne i ogniskowe stwardnienie kłębuszków (FSG).

focal segmental glomerulosclerosis

Charakterystyczne zmiany początkowo ograniczone są jedynie do części kłębuszków, na ogół przyrdzeniowych. Zmiany te polegają na postępującym wzroście ilości macierzy mezangium, szkliwieniu kapilar z obliteracją światła. Zjawiska te w początkowej fazie dotyczą jedynie pojedynczych segmentów kłębuszka (zmiany segmentalne); rozpoczynają się na ogół w biegunie naczyniowym. Wzrostowi ilości macierzy mezangium nie towarzyszy istotne zwiększenie komórkowości (fot. 7). W dalszym przebiegu choroby następuje zajęcie kolejnych kłębuszków, także poza strefą przyrdzenną i całkowite zeszkliwienie kłębków już zajętych. Ponadto na terenie kłębuszków opisywane są przez niektórych autorów komórki piankowate jako częsty i charakterystyczny objaw.

W przebiegu segmentalnego i ogniskowego stwardnienia kłębuszków często obserwowane są zmiany pozakłębuszkowe, mające postać zaniku kanalików i włóknienia podścieliska, nie mają charakteru swoistego (fot. 8). Także pojawiające się w późniejszym okresie choroby całkowicie zeszkliwiałe kłębuszki nie pozwalają na postawienie jednoznacznego rozpoznania FSG [158].

W badaniu immunofluorescencyjnym mogą występować złogi immunoglobulin, głównie IgM, ograniczone do obszarów szkliwienia.

Ultrastrukturalnie obraz nie jest charakterystyczny; dominują cechy szkliwienia kłębuszka w postaci wzrostu ilości macierzy mezangium, falistego przebiegu błony podstawnej kapilar. We wczesnej fazie charakterystyczne ma być występowanie obszarów "nagiej" błony podstawnej, pozbawionej podocytów. W błonach podstawnych, śródbłonowo mogą być obecne drobne elektronowogęste złogi.

Etiologia i patogeneza segmentalnego i ogniskowego stwardnienia kłębuszków jest niejasna. Część przypadków ma charakter rodzinny; w niektórych z nich znany jest występujący defekt

genetyczny. FSG występuje także w przebiegu takich jednostek jak choroby Charcot-Marie-Tooth, zespołu Denys-Drash i zespołu Frasiera [78]. Rozważania na temat etiopatogenezy FSG utrudnia fakt, że podobne zmiany morfologiczne mogą mieć zarówno charakter pierwotny, jak i wtórny do innych procesów chorobowych powodujących utratę czynnych nefronów. W obu przypadkach kluczowym zjawiskiem patogenetycznym ma być uszkodzenie podocytów. W postaci pierwotnej FSG mechanizmem tego uszkodzenia może być proces immunologiczny. W postaci wtórnej początkową przyczyną pojawiania się zmian ma być nadmierna filtracja i przeciążenie czynnościowe zachowanych kłębuszków. Zmiany analogiczne do FSG można zaobserwować doświadczalnie w modelu nefrektomii 5/6

Kompensacyjne powiększenie kłębuszków nerkowych jest prawdopodobnie współczynnikiem patogenetycznym w rozwoju ich stwardnienia. Powiększone i poszerzone kapilary kłębuszkowe podlegają, jak wynika z prawa Laplace'a, większym naprężeniom. Wynikające stąd mechaniczne rozciąganie, a także zwiększona filtracja indukują produkcję cytokin, takich jak TGF- β i PDGF co ma prowadzić do rozrostu komórek mezangium i w konsekwencji do stwardnienia kłębuszków [167]. Rodriguez-Lopez i współpracownicy [149] na modelu szczurzym wykazali wzrost proliferacji i apoptozy w kłębuszkach nerkowych w czasie rozwoju powoli postępującej niewydolności nerek w przebiegu doświadczalnego nadciśnienia. Uważają oni, że to brak równowagi między proliferacją a apoptozą w kłębuszkach odpowiada za powiększenie kłębuszków w przebiegu przewlekłej niewydolności nerek. Howie wysuwa przypuszczenie, że przyczyną części postaci ogniskowego i segmentalnego szkliwienia kłębuszków jest mechaniczne uszkodzenie pętli naczyń w wyniku ich wypadania w obręb światła kanalika bliższego. Najistotniejszym zjawiskiem w rozwoju FSG ma być uszkodzenie podocytów. Ubytek komórek nabłonkowych kłębuszka jest nieodwracalny ze względu na bardzo ograniczone możliwości ich regeneracji. Przy niedostatecznej naprawie powstają ogniska "nagiej" błony podstawnej kłębuszka, które ulegają zlepieniu z blaszką ścienną torebki Bowmana. Pojawienie się obszarów szkliwienia kapilar kłębuszkowych wynika z nadmiernego przechodzenia białka przez obnażoną błonę podstawną kapilar. Następuje przenikanie przesącza do podścieliska, co indukują produkcję składników substancji pozakomórkowej przez fibroblasty śródmiąższu nerki. Wynikiem tego jest poszerzenie przestrzeni okołokłębuszkowej, a w późniejszym etapie także okołokanalikowej. W konsekwencji dochodzi do rozwoju zmian zwyrodnieniowych komórek nabłonka kanalików i ich zaniku. Ostateczne bliznowacenie nefronu może przebiegać na 2 drogach: 1) gdy zjawiska kanalikowe i kłębuszkowe zachodzą równomiernie, dochodzi do włóknienia, zaniku i w końcu zastąpienia czynnego miąższu nerki przez tkankę włóknistą, 2) gdy

zmiany kanalikowe postępują szybciej, tworzy się z kłębuszka torbielka ("*atubular glomerular cyst*") [29, 67, 91, 92, 98, 171].

Dyskutowany jest stosunek ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków do glomerulopatii minimalnej. Niektórzy autorzy uważają, że w części przypadków glomerulopatia minimalna podlega progresji do ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków. Według innych, proces chorobowy ma od początku odmienny charakter, a jedynie ze względu na zlokalizowane umiejscowienie zmian w ogniskowym i segmentalnym stwardnieniu kłębuszków jest możliwa jego początkowa błędna klasyfikacja jako glomerulopatii minimalnej. Argumentem za tym drugim poglądem są wyniki badań ilościowych, wykazujących wzrost ilości macierzy mezangium, a także całkowitej objętości kłębuszka, jak zostało to pokazane retrospektywnie w wypadkach w których ostatecznie rozpoznano ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków [198, 199, 201].

Typowe objawy kliniczne FSG to białkomocz, w większości na poziomie zespołu nerczycowego, przy czym białkomocz ma od początku choroby charakter nieselektywny. W prawie połowie przypadków występuje także krwinkomocz [158].

Rokowanie odległe w ogniskowym i segmentalnym stwardnieniu kłębuszków nie jest dobre. Wprawdzie przebieg choroby jest na ogół wieloletni, jednak ostatecznie często prowadzi do rozwoju mocznicy i konieczności dializoterapii. Skuteczność leczenia zachowawczego jest ograniczona, chociaż donosi się o dobroczynnym wpływie długotrwałej sterydoterapii, stosowania cytostatyków oraz cyklosporyny [113, 136].

5.3 Glomerulopatia błoniasta (GB).

glomerulopathia membranosa, glomerulopathia epimembranosa, glomerulonephritis membranosa

Charakterystycznym obrazem stwierdzanym w mikroskopii optycznej w przebiegu GM jest regularne pogrubienie ścian kapilar kłębuszka (fot. 9 i 10). W początkowej fazie procesu pogrubienie takie może nie być wyraźne, natomiast w preparatach srebrzonych bywają widoczne delikatne wypustki na nabłonkowej powierzchni błon podstawnych kapilar, określane mianem kolców (*spikes*). Zmianom w ścianach kapilar może towarzyszyć niewielkiego stopnia pomnożenie komórek, oraz wzrost ilości macierzy mezangium. W zaawansowanych stadiach choroby pojawia się różnego stopnia sklerotyzacja kłębuszków doprowadzająca stopniowo do całkowitego zwłóknienia części z nich.

W rzadkich przypadkach mogą być widoczne półksiężyce. Jest to wyrazem rozwoju reakcji humoralnej skierowanej przeciwko składnikom błony podstawnej kłębuszka, analogicznej do występującej w zespole Goodpasture'a [159].

W badaniu immunofluorescencyjnym stwierdza się ziarniste, układające się pseudolinearnie wzdłuż ścian kapilar złogi zawierające głównie immunoglobulinę IgG.

W badaniu ultrastrukturalnym charakterystyczne są elektronowogęste złogi podnabłonkowe. W trakcie przebiegu choroby występuje odkładanie materiału pozakomórkowego o składzie zbliżonym do błony podstawnej, najpierw pomiędzy złogami, co odpowiada widocznym w mikroskopii optycznej kolcom. Następnie podobny materiał jest odkładany na powierzchni nabłonkowej złogów, doprowadzając do ich całkowitego pogrążenia w nowopowstałej błonie podstawnej. Gęstość depozytów zmniejsza się tak, że w obrazie ultrastrukturalnym przestają one być widoczne i w pewien czas po przebyciu rzutu GM stwierdza się jedynie pogrubienie błony podstawnej kapilar kłębuszkowych. Jako że GM jest chorobą przewlekłą, nierzadko przebiegającą z nawrotami, często można obserwować odkładanie kolejnych złogów na nabłonkowej powierzchni pogrubiałej w czasie poprzednich epizodów choroby błony podstawnej.

GB może być pierwotna, może też występować wtórnie do chorób infekcyjnych (np. wirusowego zapalenia wątroby typu B), nowotworów, czy kolagenoz. Patogeneza pierwotnej GB nie jest w pełni wyjaśniona; w szczególności niecałkowicie jasne jest pochodzenie antygenowego składnika kompleksów immunologicznych w postaci pierwotnej. Istnieje klasyczny model doświadczalny (*Heymann nephritis*) w którym odczyn humoralny skierowany przeciwko antygenom na powierzchni komórek nabłonka cewek nerkowych oraz podocytów powoduje osadzanie kompleksów immunologicznych na nabłonkowej powierzchni błony podstawnej.

Prognostycznie, podstawowe znaczenie ma mieć to, czy współistnieje włóknienie podścieliska i zanik kanalików, czy też nie (fot. 11). W przypadkach bez zmian podścieliskowo-kanalikowych utrzymanie funkcji nerek po 10 latach od pojawienia się objawów klinicznych jest możliwe u ponad 90% chorych. Przy obecności nasilonych zmian podścieliskowo-kanalikowych wydolność nerki zachowana jest jedynie w około 25 - 40% przypadków. Także znaczny przybytek mezangium, wtórne ogniskowe i segmentalne szkliwienie kłębuszków i stwardnienie tętniczek są niekorzystne rokowniczo. Pojawienie się półksiężyców i zmiany zapalne w obrębie naczyń pozakłębuszkowych znacznie pogarszają rokowanie [98, 181, 193].

5.4 Choroba Bergera (NlgA).

nefropatia IgA, nefropatia IgA/IgG

W większości publikacji NlgA należy do najczęstszych postaci glomerulopatii. Częstość jest jednak rozmaita w różnych krajach i waha się w szerokich granicach, bo od 2% (USA) poprzez 18 - 25% we Włoszech i Australii do 50% (kraje azjatyckie) wszystkich glomerulopatii. W Polsce częstość tej jednostki chorobowej Danilewicz ocenia na 9% [38]. NlgA początkowo

uważana była za zmianę o łagodnym przebiegu, jednak mimo tego, że przebieg kliniczny bywa długotrwały, należy ona jednak do chorób o poważnym rokowaniu odległym. Wpływ leczenia na przebieg choroby jest niewielki i brak jest swoistego postępowania, choć w ostatnich latach pojawiły się doniesienia o dobroczynnym wpływie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Częstość rozwoju przewlekłej niewydolności nerek oceniana jest na 5 do 40%. W nowszych publikacjach występuje tendencja do podawania wyższych częstości rozwoju niewydolności nerek w przebiegu NIGa. Przebieg tej jednostki chorobowej w indywidualnym przypadku bywa trudny do przewidzenia. W ostatnich latach zaproponowano stopniowanie zmian morfologicznych w postaci bądź indeksu *grade* (aktywność) i *stage* (sklerotyzacja), bądź podział na pięć klas od zmian minimalnych, poprzez zmiany przypominające ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków, zmiany rozplamowe ogniskowe i globalne, aż do zaawansowanego włóknienia. Obie metody klasyfikacji mają być pomocne w określeniu rokowania [169, 183].

Cechami klinicznymi o niekorzystnym oddziaływaniu na rokowanie są znaczny białkomocz (szczególnie przekraczający 1g na dobę), nadciśnienie, wysoki poziom kreatyniny, płeć męska i starszy wiek w momencie rozpoczęcia choroby. Według Danilewicza u pacjentów w starszym wieku NIGa charakteryzuje się mniejszym nasileniem zmian rozplamowych mezangium, natomiast wyraźniejszym zwiększeniem względnej objętości podścieliska [8, 41, 146, 166, 183, 195].

Histologicznie występujące zmiany są, różnorodne. Najczęściej mają one charakter mezangialno-rozplamowy, raczej rozlany niż ogniskowy (fot. 14 i 15). W immunofluorescencji stwierdza się obecność złogów o przeważająco mezangialnej lokalizacji, zawierających głównie IgA. W części przypadków współwystępują depozyty IgG. W badaniu ultrastrukturalnym widoczne są elektronowogęste złogi na terenie mezangium.

Mechanizmy regulujące samo wytwarzanie immunoglobuliny A tak w warunkach prawidłowych jak w przebiegu choroby Bergera są niecałkowicie poznane. W przebiegu NIGa występują zaburzenia immunologiczne jak podniesienie poziomu IgA w surowicy, wzrost poziomu IgA-dodatnich limfocytów w krwi obwodowej, wzrost produkcji IgA *in vitro* przez izolowane z krwi limfocyty, nadczynność limfocytów Th. W nefropatii IgA produkcja tej immunoglobuliny jest zwiększona na terenie szpiku oraz migdałków; produkcja na terenie błon śluzowych jest natomiast zmniejszona. W związku z tym tonsillektomia w pewnym zakresie może korzystnie wpływać na przebieg choroby. Kluczowym mechanizmem w rozwoju choroby ma być produkcja nieprawidłowo glikozylowanej IgA1, niewłaściwie usuwanej we wątrobie i ulegającej odkładaniu na terenie kłębuszków. Odkładanie nieprawidłowej immunoglobuliny i jej oddziaływanie na komórki mezangium może być związane z jej zmienionym ładunkiem

elektrycznym. Zapoczątkowanie produkcji immunoglobuliny A poprzez mechanizm zależny od IL-6, może wynikać z działania czynnika infekcyjnego pochodzenia, być może antygenów paciorkowca. W powstawaniu NIgA współuczestniczy też zaburzenia poziomu ekspresji receptora dla fragmentu Fc IgA (CD89). Ryzyko zachorowania na NIgA ma być związane z polimorfizmem w obrębie promotora genu dla CD89. Czynniki genetyczne prowadzące do rozwoju choroby Bergera nie są obecnie dokładnie znane. Co więcej, prawdopodobnie u różnych ras odsetek przypadków o istotnym uwarunkowaniu genetycznym jest różny. Ostatnio zasugerowano autosomalny dominujący model dziedziczenia o niepełnej penetracji; zlokalizowano także gen który mógłby być odpowiedzialny za występowanie NIgA. Geneza płamicy Shoenleina-Henocha przebiegającej z zajęciem nerek ma być analogiczna do NIgA. W związku z tym choroba Bergera i płamica Shoenleina-Henocha są obecnie coraz powszechniej uważane za warianty tej samej choroby [5, 6, 25, 59, 70, 89, 95, 101, 183, 191].

5.5 Glomerulopatia mezangialna (GMez).

mezangialno-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek

Jest to prawdopodobnie jednostka heterogenna, obejmująca także takie przypadki jak zejście postreptokokowego kłębuszkowego zapalenia nerek, przypadki nefropatii IgA w których nie wykazano obecności diagnostycznych złogów immunoglobulin, początkowe fazy innych nefropatii, w tym także wtórnych do chorób systemowych.

Obraz kliniczny może być rozmaity. GMez objawia się białkomoczem, do poziomu nerczycowego włącznie, z towarzyszącym krwinkomoczem, w części przypadków także nadciśnieniem tętniczym i wzrostem poziomu kreatyniny.

Przebieg jest na ogół przewlekły, ale nawet w 20 - 50% przypadków może rozwinąć się niewydolność nerek [34].

Histologicznie stwierdza się rozplem komórek mezangialnych, na ogół miernego lub umiarkowanego stopnia i przybytek macierzy. Ściany kapilar są prawidłowej grubości a błony podstawne nie zawierają złogów (fot. 12 i 13). W badaniu ultrastrukturalnym często można stwierdzić depozyty mezangialne. W immunofluorescencji spotyka się immunoglobuliny IgG i IgM, przeważnie o mezangialnej lokalizacji.

5.6 Postreptokokowe kłębuszkowe zapalenie nerek (PKZN).

wewnątrzrwłocznikowe kłębuszkowe zapalenie nerek, ostre kłębuszkowe zapalenie nerek

Częstość tej jednostki chorobowej, dawniej wysoka, w ostatnich latach istotnie spada, co ma mieć związek z powszechnym stosowaniem antybiotykoterapii. Zachorowania dotyczą głównie dzieci. W kilka tygodni po epizodzie infekcji bakteryjnej, najczęściej górnych dróg oddechowych, wywołanej przez paciorkowce (szczyepy nefrytogenne - 1, 2, 4, 12, 47, 49, 57)

pojawiają się objawy ostrego zespołu nefrytycznego. Są to: widoczny makroskopowo krwiomocz, białkomocz, nadciśnienie tętnicze i różnego stopnia upośledzenie czynności nerek. Występuje też obniżenie poziomu komplementu, oraz podwyższone miano ASO. Tak charakterystyczny obraz występuje u 90% chorych. Typowe przypadki rzadko wymagają biopsji dla postawienia rozpoznania. Wskazaniem do badania biopsyjnego może być przedłużanie się objawów ponad 8 tygodni. Przebieg kliniczny na ogół jest pomyślny; jedynie u osób starszych wczesna śmiertelność może dochodzić nawet do 25%. Odległe rokowanie jest na ogół także pomyślne. U dzieci częstość trwałego upośledzenia funkcji nerki nie przekracza 0,1%. Gorsze rokowanie odległe występuje u dorosłych a zwłaszcza u osób u których wystąpił białkomocz przekraczający 3g na dobę. W tych przypadkach częstość progresji do przewlekłej niewydolności nerek może dochodzić nawet do 25% przypadków.

Obserwowane w mikroskopie optycznym kłębuszki są powiększone, obficiekomórkowe, o zaciśniętym świetle kapilar. Wzrost komórkowości kłębuszków zależy od obecności w świetle kapilar licznych granulocytów obojętnochłonnych, obrzęku i proliferacji komórek śródbłonna oraz proliferacji komórek mezangialnych. W fazie ustępowania zmian zmniejsza się ilość granulocytów obojętnochłonnych oraz obrzęk śródbłonków, natomiast dominują zmiany rozplemowe w obrębie mezangium.

W mikroskopie elektronowym stwierdza się obecność w obszarze podnabłonkowym nieregularnych złogów - garbików ("*humps*"). W odróżnieniu od złogów podnabłonkowych widywanych w glomerulopatii błoniastej nie mają one tendencji do wbudowywania w błonę podstawną.

W badaniu immunofluorescencyjnym stwierdza się na terenie kłębuszków złogi IgG, IgM i składnika C3 dopełniacza [148, 210].

5.7 Zewnątrzłośniczkowe rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek (ZRKZN)

glomerulonephritis rapide (-a) progressiva, kłębuszkowe zapalenie nerek z półksiężycami

Cechą wyróżniającą zewnątrzłośniczkowe kłębuszkowe zapalenie nerek jest tworzenie półksiężyców, czyli rozrostów komórek i gromadzenie tkanki włóknistej w obrębie przestrzeni Bowmana. W zależności od składu wyróżniamy półksiężyce komórkowe, komórkowo-włókniste i włókniste.

W tworzeniu półksiężyców kluczowym momentem ma być naruszenie ciągłości błon podstawnych kapilar kłębuszkowych. Na drodze analogicznego mechanizmu, zmiany podścieliskowe w ZRKZN mają wynikać z uszkodzenia błony podstawnej torebki Bowmana [170]. Pochodzenie komórek tworzących półksiężyce jest niejasne. Sugeruje się że mogą to być

1) proliferujące komórki nabłonka torebki Bowmana, 2) komórki nacieku zapalnego, głównie makrofagi, których pojawienie się w przestrzeni Bowmana ma być zależne od MIF, 3) proliferujące podocyty. Ta ostatnia możliwość wydaje się najmniej prawdopodobna, jako że większość autorów uważa podocyty za komórki spoczynkowe, niezdolne do odpowiedzi proliferacyjnej. Wydaje się, że podocyty mogą jedynie wejść w fazę M cyklu komórkowego, jednak nie są zdolne do dokończenia podziału mitotycznego. Komórki tworzące półksiężycy wykazują ekspresję cytokeratyny, natomiast według Nitty i współpracowników nie wykazują obecności markerów swoistych dla podocytów. Przemawia to za tym, że to komórki nabłonka torebki Bowmana są głównym źródłem komórek tworzących półksiężycy [29, 30].

Półksiężycy mogą być stwierdzone także przebiegu innych chorób nerek. Nieliczne struktury tego typu mogą być obecne w takich nefropatiach jak glomerulopatia błoniasta, nefropatia cukrzycowa, a nawet nefropatia refluksowa. W związku z tym, dla rozpoznania ZRKZN wymaga się stwierdzenia obecności półksiężyców w co najmniej 1/2 dostępnych badaniu kłębuszków. Tak zdefiniowane zewnątrzłośniczkowe kłębuszkowe zapalenie nerek może być procesem zarówno pierwotnym, jak też występować w przebiegu chorób systemowych takich jak ziarniniak Wegenera, systemowe zapalenia naczyń, czy toczeń rumieniowaty trzewny. Przypadki idiopatyczne, w zależności od obrazu immunofluorescencyjnego dzieli się na 1) przebiegające z linearnym odkładaniem immunoglobulin na terenie kapilar kłębuszka co związane jest z obecnością przeciwciał przeciw błonie podstawnej kłębuszka (a więc stanowiące wariant zespołu Goodpasture'a), 2) związane z obecnością ziarnistych depozytów immunologicznych w kłębuszkach, a więc stanowiące chorobę kompleksów immunologicznych (tutaj można zaliczyć ZRKZN stanowiące powikłanie ostrego postreptokokowego kłębuszkowego zapalenia nerek), 3) bez istotnych depozytów w obrębie kłębuszka (tzw. "*pauci immune glomerulonephritis*"). W istotnym odsetku takich przypadków stwierdza się w surowicy pacjenta obecność przeciwciał przeciw cytoplazmie neutrofilii (ANCA), szczególnie o okołojądrowym typie świecenia (pANCA); w innych przypadkach mechanizm immunologiczny patogenezy choroby związany jest z odpornością typu komórkowego.

Rokowanie w wypadkach ZRKZN jest poważne i w znacznej części przypadków choroba doprowadza do niewydolności nerek w ciągu 1 - 2 lat. Czynniki rokownicze nie zostały dokładnie sprecyzowane, ale według Sasatomi i współpracowników [160] do istotnych czynników rokowniczych należy: 1) ilość półksiężyców, 2) stopień sklerotyzacji kłębuszków, 3) zaawansowanie zmian podścieliskowych, 4) poziom białkomoczu, obecność nadciśnienia i niedokrwistości. Podejmuje się próby tworzenia półilościowych indeksów aktywności i przewlekłości procesu zapalnego, mające na celu lepsze zaplanowanie leczenia [9, 152].

5.8 Ogniskowe rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek (ORKZN).

Morfologicznie ORKZN charakteryzuje się obecnością rozplemu komórek mezangium ograniczonego do części kłębuszków, a w ich obrębie jedynie do niektórych pętli kapilar. Może współwystępować martwica włóknikowata.

W badaniu Immunofluorescencyjnym na terenie kłębuszków stwierdza się obecność złogów immunoglobulin jak też dopełniacza. Złogi te obecne są zarówno w częściach kłębuszków wykazujących zmiany w mikroskopie optycznym, jak też w tych kłębuszkach, w których takich zmian nie daje się zauważyć.

Podobny obraz morfologiczny bywa widywany w przypadku zapaleń naczyń, infekcji a także w chorobie Bergera.

5.9 Błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek (BRKZN)

mezangialno-włośniczkowe kłębuszkowe zapalenie nerek

Jest to heterogenna grupa kłębuszkowych zapaleń nerek, o zbliżonym obrazie w mikroskopii optycznej. Na podstawie obrazu ultrastrukturalnego można wyróżnić BRKZN typu I i III oraz chorobę gęstych złogów (DDD) zwaną też typem II BRKZN. Stosunek tych jednostek chorobowych do siebie nie jest w pełni jasny. Typ I może występować w przebiegu chorób systemowych oraz chorób infekcyjnych, jak wirusowe zapalenie wątroby typu C. Niektóre przypadki BRKZN występują rodzinie, przy czym obserwowane było dziedziczenie autosomalne dominujące, jak też związane z chromosomem X. Genetyczny niedobór czynnika regulacyjnego H u świń jest modelem błoniasto-rozplemowego kłębuszkowego zapalenia nerek typu II. U ludzi defekty różnych składników układu dopełniacza występują częściej w przebiegu BRKZN typu I i III niż w wypadku DDD. BRKZN typu I i III mogą współwystępować w tych samych rodzinach. Z drugiej strony nie stwierdza się przypadków przechodzenia jednej formy w drugą. Większość przypadków tej jednostki chorobowej jest sporadyczna; mechanizmem patogenetycznym ma być produkcja przeciwciał aktywujących i stabilizujących składnik C3 komplementu. DDD bywa uważana była za wariant BRKZN, w związku z podobnym obrazem w mikroskopie optycznym, jednak nazwa BRKZN typu II, wydaje się mniej właściwa ze względu na odmienny o pozostałych typów obraz ultrastrukturalny i prawdopodobnie patogenezę [118].

W mikroskopii optycznej BRKZN charakteryzuje się pogrubieniem ścian kapilar, które jest na ogół znaczne, lecz nie tak regularne jak w glomerulopatii błoniastej. W obrębie ścian kapilar mogą być widoczne fuksynofilne złogi, które mogą być obecne także w mezangium. W preparatach srebrzonych charakterystyczna jest obecność podwójnego okonturowania ścian kapilar, a więc pojawienie się w miejsce jednolitej błony podstawnej dwu ciemniejszych obrysów, przedzielonych jaśniejszą przestrzenią (obraz "szyn tramwajowych"). Na terenie

mezangium występuje znaczne pomnożenie komórek. Mogą być obecne zlepy pomiędzy pętlami naczyniowymi, lub między pętlami a torebką Bowmana. Znaczna proliferacja komórek mezangialnych, w połączeniu z obecnością zrostów powoduje, że w wielu przypadkach normalna struktura zrazikowa pętli naczyniowych kłębuszka staje się pokreślona i łatwo widoczna. W dawniejszych opracowaniach taką *'postać z lobulacją'* wyodrębniano jako osobną jednostkę (fot. 16 do 19).

W badaniu immunofluorescencyjnym, charakterystyczna jest obecność składnika C3 dopełniacza w obrębie kłębuszków. Jest to wyraz aktywacji systemu komplementu na drodze alternatywnej.

Rozróżnienie poszczególnych typów BRKZN opiera się na zastosowaniu badania ultrastrukturalnego.

typ I

Jest to postać zdecydowanie najczęstsza. W badaniu ultrastrukturalnym stwierdza się obecność depozytów elektronowogęstych głównie o lokalizacji podśródbłonkowej. Mogą być obecne także złogi podnabłonkowe oraz mezangialne. Występuje przemieszczenie (interpozycja) mezangium polegające na wnikanii wypustek komórek mezangialnych pomiędzy błonę podstawną kapilary a komórkę śródbłonka. Takie wypustki cytoplazmatyczne są zwykle otoczone z obu stron przez materiał błony podstawnej, na skutek jego produkcji zarówno przez samą komórkę mezangium, jak i komórki śródbłonka. Temu właśnie obrazowi w badaniu mikroskopowelektronowym odpowiada podwójne okonturowanie widoczne w mikroskopii optycznej.

W badaniu immunofluorescencyjnym obok złogów dopełniacza często obecne są depozyty IgG i IgM, rzadziej IgA i fibrynogenu.

Klinicznie, BRKZN typu I objawia się zespołem nerczycowym, zespołem nefrytycznym, izolowanym białkomoczem lub krwinkomoczem. W połowie wypadków w momencie rozpoznania może występować upośledzenie czynności nerki. 5 lat przeżywa 70% chorych; 10 lat 40 - 50%.

typ III

Jest to postać rzadka. W badaniu ultrastrukturalnym stwierdza się obecność depozytów elektronowogęstych zarówno o podnabłonkowej jak i podśródbłonkowej lokalizacji, przy czym te pierwsze są liczniejsze, co odróżnia tą jednostkę chorobową od typu I. Podobnie obecne jest przemieszczenie mezangium w obręb błony podstawnej kapilar.

Danilewicz porównywał ilościowo zmiany ultrastrukturalne w BRKZN typu III i w glomerulopatii błoniastej i stwierdził, że w tej ostatniej widoczne są znamienne grubsze błony podstawne, a ilość depozytów też jest większa. Potwierdza to odrębność tych dwu jednostek

chorobowych, które w badaniu morfologicznym, także ultrastrukturalnym, mogą dawać zbliżony obraz [37].

Objawy kliniczne obejmują głównie białkomocz lub zespół nerczycowy, w części przypadków współistnieje krwiomocz. Rokowanie bywa trudne do przewidzenia, ale w zasadzie jest podobne jak w typie I.

5.10 Choroba gęstych złogów (DDD)

dense deposits disease, błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek typu II

Jest to rzadka postać glomerulopatii. Ultrastrukturalnie charakterystyczna jest obecność elektronowogęstych, liniowych złogów w centralnej części błony podstawnej. Złogi te mogą być także widoczne w mikroskopie optycznym, w preparatach srebrzonych, jako słabiej wysrebrzony obszar w środkowej części błony podstawnej. Złogi te są także widoczne w skrawkach barwionych błękitem toluidyny. Obraz w mikroskopie optycznym obejmuje proliferację komórek mezangium, na ogół miernego stopnia, wzrost ilości macierzy i wyraźne pogrubienie ścian kapilar (fot. 20).

Obok zmian stwierdzanych w kłębuszkach nerkowych złogi o analogicznym wyglądzie stwierdza się między innymi w błonach podstawnych kanalików nerkowych i naczyniach pozanerkowych. W części przypadków współistnieje połowicza lipodystrofia.

W badaniu immunofluorescencyjnym obok złogów dopełniacza bywają obecne skąpe złogi IgM.

Rokowanie w przebiegu DDD jest gorsze niż w przebiegu błoniasto-rozplemowego kłębuszkowego zapalenia nerek typu I; w większości przypadków dochodzi do rozwoju przewlekłej niewydolności nerek, chociaż czas jej rozwoju może sięgać kilkunastu lat. Możliwe są także przypadki spontanicznej remisji. DDD często nawraca w nerce przeszczepionej [23, 109].

5.11 Plamica Shoenleina-Henocha (PS-H).

Jest chorobą o nieznanym etiologii. Kwestia stosunku plamicy Shoenleina-Henocha do choroby Bergera przez długi czas pozostawała niejasna. Obraz morfologiczny zmian nerkowych w tych obu jednostkach jest bardzo podobny. Obecnie przeważa opinia, że obie choroby mogą stanowić manifestacje jednego procesu polegającego na odkładaniu IgA w tkankach, bądź w sposób uogólniony (PS-H), bądź ograniczony do nerek (NIgA). Wystąpienie zajęcia nerek w przebiegu PS-H ma wiązać się z defektami glikozylacji IgA, analogicznymi do występujących w chorobie Bergera [6]. PS-H jest na ogół klasyfikowana wśród nefropatii wtórnych, które nie stanowią pola zainteresowania niniejszej pracy. Jednak ze względu na postulowaną tożsamość choroby Bergera i PS-H do rozpatrywanego materiału włączono przypadki tej jednostki chorobowej.

Klinicznie PS-H objawia się wysypką skórą, bólami brzucha, często z różnego stopnia krwawieniem do przewodu pokarmowego, dolegliwościami stawowymi. W około 1/2 przypadków występują zmiany nerkowe.

Histologicznie w zajętych nerkach stwierdza się zmiany mezangialno-rozplemowe, często z tworzeniem półksiężyców komórkowych. W badaniu immunofluorescencyjnym stwierdza się obecność złogów immunoglobuliny A o lokalizacji mezangialnej. W badaniu ultrastrukturalnym stwierdza się obecność elektronowogęstych złogów, głównie na terenie mezangium, ale też w innych częściach kłębuszka.

5.12 "Fibrillary glomerulonephritis" (FG).

Jest to jednostka stosunkowo niedawno opisana, dość rzadka, rozpoznawana w około 1% biopsji.

W wypadku FG konieczny do postawienia rozpoznania, charakterystyczny obraz stwierdzany jest w mikroskopie elektronowym. Na terenie substancji pozakomórkowej kłębuszka nerkowego występują złogi złożone z przypadkowo ułożonych włókien, grubszych niż włókna amyloidu, bo mających średnicę pomiędzy 15 a 30nm, średnio 20nm. Tak zwana *immunotactoid glomerulopathy*, w przebiegu której złogi złożone są z grubych tubul, stanowi prawdopodobnie odrębną jednostkę chorobową. W mikroskopie optycznym widoczne są eozynochłonne, barwiące się metodą paS masy, nie wykazujące barwliwości przy zastosowaniu metod stosowanych w diagnostyce skrobiawicy. Zmiany w mikroskopii optycznej bywają rozmaite i mogą imitować inne postaci glomerulopatii takie jak glomerulopatia błoniasta, mezangialno-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek lub błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek. W badaniu immunofluorescencyjnym w obrębie kłębuszków stwierdza się obecność złogów immunoglobulin, najczęściej IgG, szczególnie IgG4. Patogeneza FG nie jest jasna, ale przynajmniej w części przypadków choroba wiąże się ze współistnieniem monoklonalnej gammapatii.

Przebieg FG jest na ogół niekorzystny, w ciągu 2 - 3 lat rozwija się przewlekła niewydolność nerek. Jednak w części przypadków taka ewolucja może potrwać 10 i więcej lat. Chorobę charakteryzuje wysokie ryzyko wznowy w nerce przeszczepionej [23, 87].

5.13 Przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek (PKZN).

Nazwa tą obejmuje się przypadki kłębuszkowych chorób nerek w których dominuje znacznego stopnia włóknienie i szkliwienie kłębuszków, zwykle z towarzyszącymi zmianami pozakłębuszkowymi, w postaci zaniku kanalików, włóknienia podścieliska, często z przewlekłymi nieswoistymi naciekami zapalnymi.

Tak zdefiniowane PKZN jest końcowym stadium i zejściem różnych pierwotnych i wtórnych kłębuszkowych zapaleń nerek, które w różnym stopniu mogą do niego prowadzić; jednak na tym etapie rozwoju choroby bliższe scharakteryzowanie podłoża morfologicznego procesu który doprowadził do uszkodzenia nerki staje się niemożliwe. Tak więc jest to grupa heterogenna.

Cel pracy

- 1) zbadanie związków pomiędzy wynikami podstawowych badań klinicznych wykonywanych w okresie przeprowadzenia biopsji, a zmianami w obrębie śródmiąszu, kanalików i naczyń pozakłębuszkowych w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek. Ważne z praktycznego punktu widzenia jest porównanie wyników uzyskanych z zastosowaniem oceny półilościowej w trakcie przeglądania materiału mikroskopowego i metod ilościowych, w szczególności komputerowej analizy obrazu,
- 2) określenie, które z badanych parametrów morfologicznych wiążą się z niekorzystnym przebiegiem klinicznym choroby, a w szczególności z rozwojem schyłkowej niewydolności nerek, wyrażającej się koniecznością wdrożenia dializ pozaustrojowych w trybie przewlekłym,
- 3) dla zrealizowania postawionych zadań konieczne było stworzenie, na bazie posiadanego w Katedrze Patomorfologii systemu analizy obrazu, oprogramowania aplikacyjnego umożliwiającego wykonanie zadanych pomiarów.

Materiał i metody

1 Materiał

Materiał histologiczny stanowiły archiwalne preparaty biopsji nerek pochodzące ze zbiorów Katedry Patomorfologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Do przeprowadzenia pracy posłużyły biopsje nerek diagnozowane w latach 1992 - 1997. Wstępnie wybrano wszystkie biopsje z tego okresu spełniające kryteria reprezentatywności. Za reprezentatywne uznano przypadki w których stwierdzono obecność w części materiału przeznaczonej do mikroskopii optycznej co najmniej 6 kłębuszków z wyłączeniem kłębuszków w znacznym stopniu zwłókniałych i zeszkliwiałych [57, 126]. Z opracowywanego materiału wyłączono przypadki w których zajęcie nerek było wtórne do chorób systemowych. Na podstawie danych z literatury wiadomo, że w tych jednostkach znaczenie zmian pozakłębuszkowych dla czynności nerki i rokowania może być odmienne od występującego w pierwotnych glomerulopatiach. W grupie w ten sposób odrzuconych przypadków występowały głównie rozpoznania tocznia rumieniowatego trzewnego, skrobiawicy, nefropatii cukrzycowej a także ziarniniaka Wegenera, choroby Goodpasture'a i bliżej nieokreślonych kolagenoz [26].

Materiał pochodził od 133 pacjentów.

Biopsje wykonywane były w:

- Klinice Nefrologii CMUJ w 37 przypadkach,
- II Klinice Chorób Wewnętrznych CMUJ w 4 przypadkach,
- Oddziale Nefrologii Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego im. Rydygiera w Krakowie w 33 przypadkach,
- I Oddziale Chorób Wewnętrznych i Dializoterapii Szpitala Wojewódzkiego im. Św. Łukasza w Tarnowie w 14 przypadkach,
- I Oddziale Chorób Wewnętrznych i Dializoterapii Szpitala Specjalistycznego im. A. Szczeklika w Tarnowie w 11 przypadkach,
- Oddziale Chorób Wewnętrznych ze Stacją Dializ Szpitala w Nowym Sączu w 34 przypadkach.

2 Przygotowanie preparatów i kontrola ich jakości

Biopsje nerek przesyłane były do pracowni biopsyjnej Katedry Patomorfologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w stanie nieutrwalonym, a jedynie w wypadku biopsji ze Szpitala w Nowym Sączu w dwu fragmentach, utrwalonych odpowiednio w formalinie oraz w płynie Karnowsky'ego. Materiał natychmiast po otrzymaniu oceniany był przy użyciu lupy stereoskopowej, z oddzieleniem niewielkiego fragmentu do badania ultrastrukturalnego. Jeśli

możliwe było zidentyfikowanie kłębuszków na powierzchni bioptatu, materiał do badania ultrastrukturalnego pobierano w ten sposób, aby był w nim obecny co najmniej jeden kłębuszek. Fragment ten utrwalany był w płynie Karnowsky'ego, przeprowadzany w sposób rutynowy i zatapiany w żywicy epoksydowej Spurr. Z tak wykonanych kostek wykonywano preparaty półcienkie barwione błękitem toluidyny a następnie skrawki do badania ultrastrukturalnego. Przygotowane w ten sposób skrawki były oceniane w transmisyjnym mikroskopie elektronowym Zeiss EM900. Pozostała część materiału była utrwalana w zbuforowanym 10% roztworze formaliny, przeprowadzana w sposób rutynowy i zatapiana w parafinie. Z kostek parafinowych wykonywano skrawki grubości 4µm, barwione hematoksyliną i eozyną, oraz metodami PAMS, paS i orceinową. Metodę barwień przedstawiono na stronie 137.

Także z utrwalonych w formalinie skrawków parafinowych wykonywano, po trawieniu pronazą, odczyny immunofluorescencyjne z zastosowaniem surowicy wykrywających immunoglobuliny IgA, IgG, IgM, składniki dopełniacza C1q, C3c i fibrynogen. Szczegółowy protokół wykonania immunofluorescencji bezpośredniej przedstawiono na stronie 138.

Taka metodyka, rutynowo stosowana w Katedrze Patomorfologii, odbiega od powszechnie stosowanej i może wiązać się ze zmniejszeniem czułości i swoistości metody; zwiększa jednak ilość materiału dostępnego w badaniu w mikroskopie optycznym i redukuje liczbę przypadków biopsji niereprezentatywnych. Ułatwia też odniesienie obrazu immunofluorescencyjnego do obrazu w mikroskopie optycznym [57, 179].

Kontrolę grubości skrawków przeznaczonych do badań ilościowych przeprowadzano przy użyciu mikroskopu Axioscop firmy Zeiss, z immersyjnym obiektywem o powiększeniu 100x. Przed każdym cyklem pomiarów ustawiano oświetlenie w systemie Kehlera. Następnie w kilku punktach wycinka, odczytywano na noniuszu śruby mikrometrycznej odległość pomiędzy punktem gdy pojawiały się pierwsze ostre fragmenty obrazu, a punktem gdy znikaly ostatnie. Skrawki różniące się od pozostałych o więcej niż 1/2 najmniejszej podziałki odrzucano.

3 Klasyfikacja histologiczna i ocena półilościowa bioptatów

Dla celów niniejszej pracy zastosowano klasyfikację, opartą na podziale opublikowanym pod auspicjami Światowej Organizacji Zdrowia [26]. Klasyfikację przeprowadzono na podstawie badania w mikroskopie optycznym, mikroskopie fluorescencyjnym metodą immunofluorescencji bezpośredniej. Badany materiał ponownie przejrano i przeprowadzono ponowną klasyfikację z zastosowaniem jednolitych kryteriów.

Podczas przeglądania materiału oceniono następujące parametry:

- 1) całkowitą ilość kłębuszków w bioptacie, widoczną na przekroju zawierającym największą ilość kłębuszków,

- 2) ilość kłębuszków całkowicie zwłókniałych i zeszkliwiałych,
- 3) zwiększenie komórkowości mezangium,
- 4) obecność granulocytów na terenie kłębuszków,
- 5) zwiększenie ilości macierzy mezangium,
- 6) pogrubienie ścian kapilar kłębuszkowych,
- 7) obecność podkreślonej lobulacji kłębuszka,
- 8) obecność podwójnego okonturowania ścian kapilar ('szyn tramwajowych'),
- 9) stopień włóknienia podścieliska nerki,
- 10) obecność i stopień zaniku kanalików,
- 11) obecność wałeczków w świetle kanalików,
- 12) obecność i intensywność nacieków komórkowych w obrębie podścieliska.

Nasilenie wymienionych cech oceniano w następującej skali półilościowej:

- 0 - brak cechy,
- 1 - cecha obecna w niewielkim nasileniu,
- 2 - cecha obecna w umiarkowanym nasileniu,
- 3 - cecha obecna w znacznym nasileniu.

4 Akwizycja obrazów

Akwizycję, przetwarzanie obrazów oraz pomiary przeprowadzono z użyciem systemu analizy obrazu AnalySIS. System ten zawierał mikroskop Zeiss Axioscop z obiektywami Plan-NEOFLUAR o powiększeniach 2.5, 10, 20, 40, 63 i 100 razy (Zeiss, Niemcy), z soczewką projekcyjną o powiększeniu 0,5x i kolorową kamerą CCD ZVS-47DE (Optronics, USA). Głowica kamery była połączona z procesorem ustalającym automatycznie optymalne parametry ekspozycji, z możliwością ich korekty przez operatora w nietypowych warunkach oświetlenia. Procesor kamery był z kolei połączony przy pomocy linii RGB z kartą frame grabber GraBIT PCI (Soft Imaging Systems GmbH, Niemcy), zainstalowaną w standartowym komputerze klasy typu PC z procesorem Intel Pentium™ taktowanym zegarem 150MHz i wyposażonym w pamięć operacyjną wielkości 64MB. System wyposażony był w dwie karty graficzne: kartę Matrox Millenium służącą do wyświetlania obrazów generowanych przez system operacyjny i oprogramowanie aplikacyjne, oraz kartę S3Trio, wyświetlającą obrazy znajdujące się w buforach systemu analizy obrazu.

Zastosowane oprogramowanie składało się z systemu operacyjnego Microsoft Windows NT Workstation 4.0 pl SP4/6, programów analizy i przetwarzania obrazów AnalySIS v 2.1 i 3.0 pro firmy (Soft Imaging System GmbH, Niemcy) oraz działających w środowisku AnalySIS własnych procedur napisanych w języku Imaging C (zgodnego z ANSI C), które realizowały

komunikację z użytkownikiem i wywoływały funkcje systemu AnalySIS służące do akwizycji i przetwarzania obrazu oraz implementujące funkcje pomiarowe zastosowane w pracy.

5 Pomiary objętości podścieliska, nacieków komórkowych w obrębie podścieliska, oraz kanalików nerkowych

W pracy posłużono się preparatami barwionymi metodą PAMS, ponieważ 1) wybarwieniu błon podstawnych łatwo było stwierdzić czy element pomiarowy leży w obrębie podścieliska, 2) były dostępne we wszystkich przypadkach i jedynie w wypadku preparatów nie spełniających kryteriów grubości skrawka, bądź nieudanych było konieczne powtórne sporządzenie preparatów; w związku z tym ograniczono problemy z dostępnością materiału. Obrazy były uzyskiwane za pomocą obiektywu 40x. Pomiary wykonywano systematycznie, we wszystkich kolejnych polach widzenia obejmujących korową część nerki. Po wprowadzeniu obrazu do systemu komputerowego, w oknie dialogowym programu (Rycina 2, strona 43) wpisywano numer przypadku.

Przy obliczaniu ilości struktur stworzone oprogramowanie wyświetlało pomocniczą siatkę ułatwiającą systematyczne przeglądnięcie całego obrazu. Aby uniknąć pomyłek w liczeniu elementów, z pomocą myszy oznaczano liczone struktury wyświetlanymi razem z obrazem znacznikami. Ilość zaznaczeń była zapamiętywana przez oprogramowanie. W ten sposób obliczano ilość obecnych w danym polu widzenia kanalików bliższych i dalszych. Za kanaliki bliższego segmentu nefronu przyjęto kanaliki z komórkami o obfitej cytoplazmie, wąskim, niekiedy niewidocznym świetle, nierównym obrysie wewnętrznym. Kanaliki tego typu, odpowiadające części krętej kanalika bliższego, stanowią większość objętości kory nerki. Kanaliki z komórkami o skąpej cytoplazmie i gładkim obrysie światła, zaklasyfikowano łącznie jako 'kanaliki dystalne'. Do pomiaru akceptowano jedynie kanaliki jednoznacznie należące do jednej z kategorii i o przekroju w przybliżeniu kolistym.

Przy pomiarze objętości względnej oprogramowanie wyświetlało wewnątrz ramki pomiarowej siatkę złożoną z 72 elementów (Rycina 3, strona 4446). Elementem pomiarowym była struktura w kształcie kąta prostego; liczono elementy pomiarowe o wierzchołku leżącym wewnątrz mierzonych składników nerki. Aby uniknąć pomyłek w liczeniu elementów, z pomocą myszy oznaczano policzone elementy, a ilość zaznaczeń była automatycznie obliczana przez oprogramowanie. W ten sposób obliczano frakcję powierzchni zajęta przez podścielisko, policzone wcześniej kanaliki proksymalne i dystalne, oraz ewentualnie obecne w polu widzenia kłębuszki i duże naczynia.

Po zakończeniu pomiarów i akceptacji przez operatora stosowany program umieszczał w pliku tekstowym wszystkie obliczone wartości wraz z numerem badania histopatologicznego i

stosowanym powiększeniem, po czym operator mógł ponownie uruchomić proces akwizycji lub zakończyć pracę z programem. Dodatkowo w pliku z wynikami, umieszczano też informację o nazwach plików zawierających obrazy mikroskopowe. Na podstawie zsumowanych danych z poszczególnych pól widzenia, za pomocą arkusza kalkulacyjnego Excell (Microsoft Corp., USA), obliczano frakcję objętości kory zajętej przez podścielisko i nacieki zapalne, wariację tych frakcji pomiędzy poszczególnymi polami widzenia, średnie wartości pola przekroju dla światła, komórek nabłonkowych i całego kanalika proksymalnego i dystalnego.

Rycina 2. Okno dialogowe programu służącego do pomiaru zmian w obrębie podścieliska i kanalików.

zapisywanie nerek na dysk

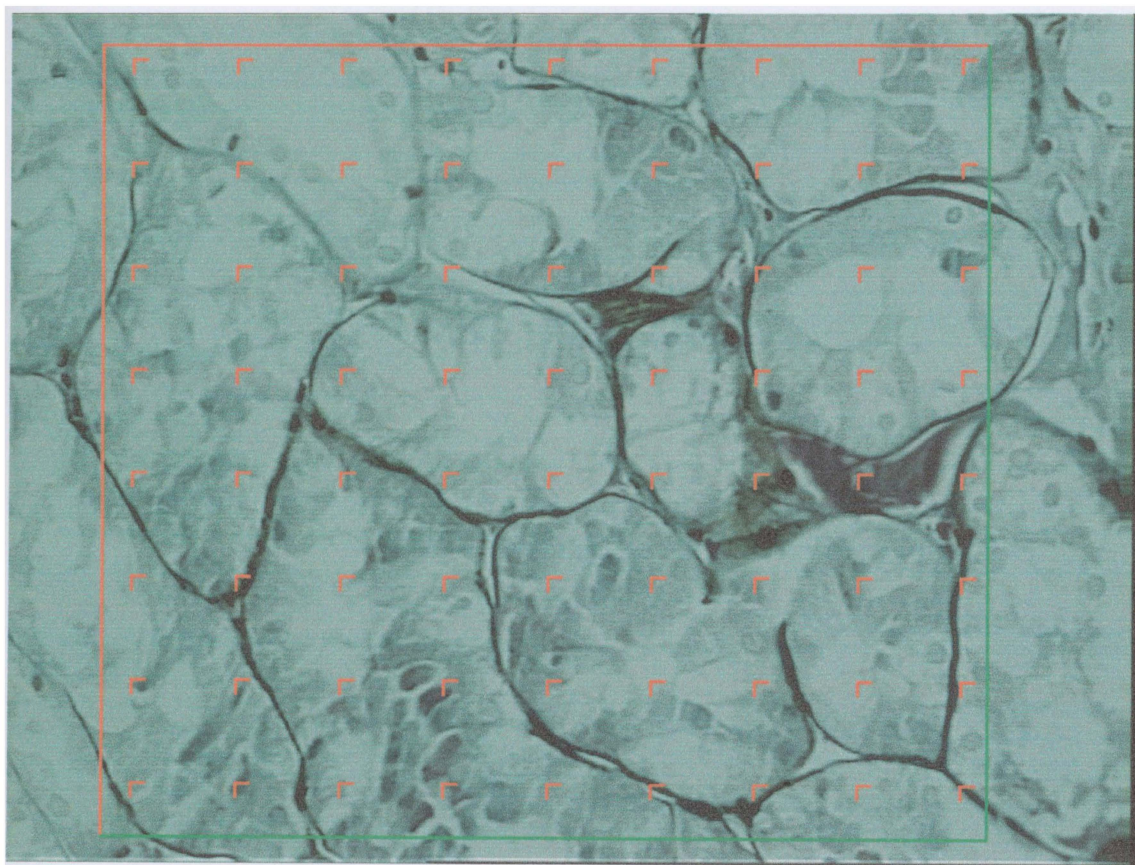
numer HP:

<input type="button" value="dziury w skrawku"/>	<input type="button" value="BD"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="button" value="Zapisz na dysk"/>
<input type="button" value="Podścielisko"/>	<input type="button" value="BD"/>		<input type="button" value="Anuluj"/>
<input type="button" value="nacieki podścieliskowe"/>	<input type="button" value="BD"/>		
<input type="button" value="Ilość kłębków"/>	<input type="button" value="BD"/>		
<input type="button" value="Pole kłębków"/>	<input type="button" value="BD"/>		
<input type="button" value="Kan. bliższe liczba"/>	<input type="button" value="BD"/>		
<input type="button" value="Kan. bliższe światło"/>	<input type="button" value="BD"/>		
<input type="button" value="Kan. bliższe komórki"/>	<input type="button" value="BD"/>		
<input type="button" value="Kan. dalsze liczba"/>	<input type="button" value="BD"/>		
<input type="button" value="Kan. dalsze światło"/>	<input type="button" value="BD"/>		
<input type="button" value="Kan. dalsze komórki"/>	<input type="button" value="BD"/>	<input type="button" value="Koniec"/>	

powiększenie

2.5x 10x 20x 40x 63x 100x

Rycina 3. Siatka stereologiczna służąca do pomiarów względnej objętości.



6 Pomiar naczyń

Do pomiarów parametrów naczyń tętnicznych posłużono się preparatami barwionymi na obecność włókien sprężystych metodą orceinową (fot. 26 i 27). Preparat przeglądano identyfikując obecne w nim przekroje większych naczyń. Obrazy znalezionych naczyń, w powiększeniu stosownym do ich kalibru, wprowadzono do systemu komputerowego. Po podaniu w oknie dialogowym programu (Rycina 4, strona 47) numeru badania histologicznego i stosowanego powiększenia, identyfikowano i ręcznie zaznaczano centralną część światła naczynia. Następnie operator za pomocą wskaźnika myszy komputera zaznaczał średnicę światła oraz odległości pomiędzy śródbłonkiem, a zewnętrzną powierzchnią błony sprężystej wewnętrznej i zewnętrznej. Pomiarów te wykonywane były trzykrotnie, w przybliżeniu wzdłuż najkrótszej osi przekroju naczynia. Program realizujący pomiary obliczał średnicę światła, oraz grubość błony wewnętrznej i środkowej przez uśrednienie otrzymanych wartości. Następnie, dzięki uzyskanemu w barwieniu orceinowym wysokiemu kontrastowi, przeprowadzone było automatyczne filtrowanie i progowanie obrazu, mające na celu znalezienie obrysu światła, oraz zewnętrznych obrysów błony sprężystej wewnętrznej i zewnętrznej (Rycina 5, strona 48). W razie potrzeby otrzymane obrysy mogły być poddane przez operatora operacji otwarcia i zamknięcia oraz interaktywnej korekcie. W wypadku znacznych niezgodności z rzeczywistym przebiegiem warstw naczynia ich obrys był wprowadzany w całości interakcyjnie za pomocą pióra tabletu graficznego. W większości przypadków wynik automatycznej segmentacji wymagał jedynie częściowej korekty. W mniejszej części przypadków konieczne było ręczne wprowadzenie obrysu. Po akceptacji otrzymanej klasyfikacji obrazu program zapisywał do pliku tekstowego numer przypadku, średnicę światła, grubość błony wewnętrznej i zewnętrznej naczynia, a także wyliczone na podstawie pomiarów obwodów i pól powierzchni wyznakowanych struktur znane z literatury wskaźniki zmian naczyniowych, jak współczynnik pogrubienia blaszki wewnętrznej (*Ratio of Intimal Thickening* - RIT) oraz indeks pogrubienia blaszki wewnętrznej (*Index of Intimal Thickening* - IIT). Ponadto, dla ułatwienia oceny zachowania się błony środkowej tętnic, dla błony środkowej obliczono analogiczne indeksy RMT i IMT:

$$\begin{aligned}
 RIT &= \frac{4\pi S_L}{L_W^2} & \text{gdzie:} \\
 IIT &= \frac{S_W - S_L}{S_W} & S_L \text{ pole powierzchni światła naczynia,} \\
 RMT &= \frac{4\pi S_M}{L_Z^2} & S_W \text{ pole powierzchni błony wewnętrznej,} \\
 IMT &= \frac{S_Z - S_W}{S_Z} & L_W \text{ długość obwodu blaszki sprężystej wewnętrznej,} \\
 & & S_M \text{ pole powierzchni przekroju błony środkowej,} \\
 & & L_Z \text{ długość obwodu blaszki elastycznej zewnętrznej,} \\
 & & S_Z \text{ pole powierzchni wewnątrz blaszki elastycznej zewnętrznej,} \\
 & & S_W \text{ pole powierzchni wewnątrz blaszki elastycznej wewnętrznej.}
 \end{aligned}$$

Aby zbadać zmiany w tętnicach rozmaitego kalibru konieczne było oznaczenie ich średnicy. Oznaczenie na podstawie wykonanych pomiarów liniowych grubości ściany i średnicy światła byłoby zaniżone, jako że pomiary wykonywane były wzdłuż najkrótszej osi przekroju naczynia. W związku z tym, przyjmując że rzeczywisty przekrój naczynia winien mieć kształt koła, określono średnicę jako:

$$d = 2\sqrt{\frac{S_Z}{\pi}}$$

gdzie:

- S_Z - pole powierzchni wewnątrz blaszki elastycznej zewnętrznej,
 d - średnica naczynia.

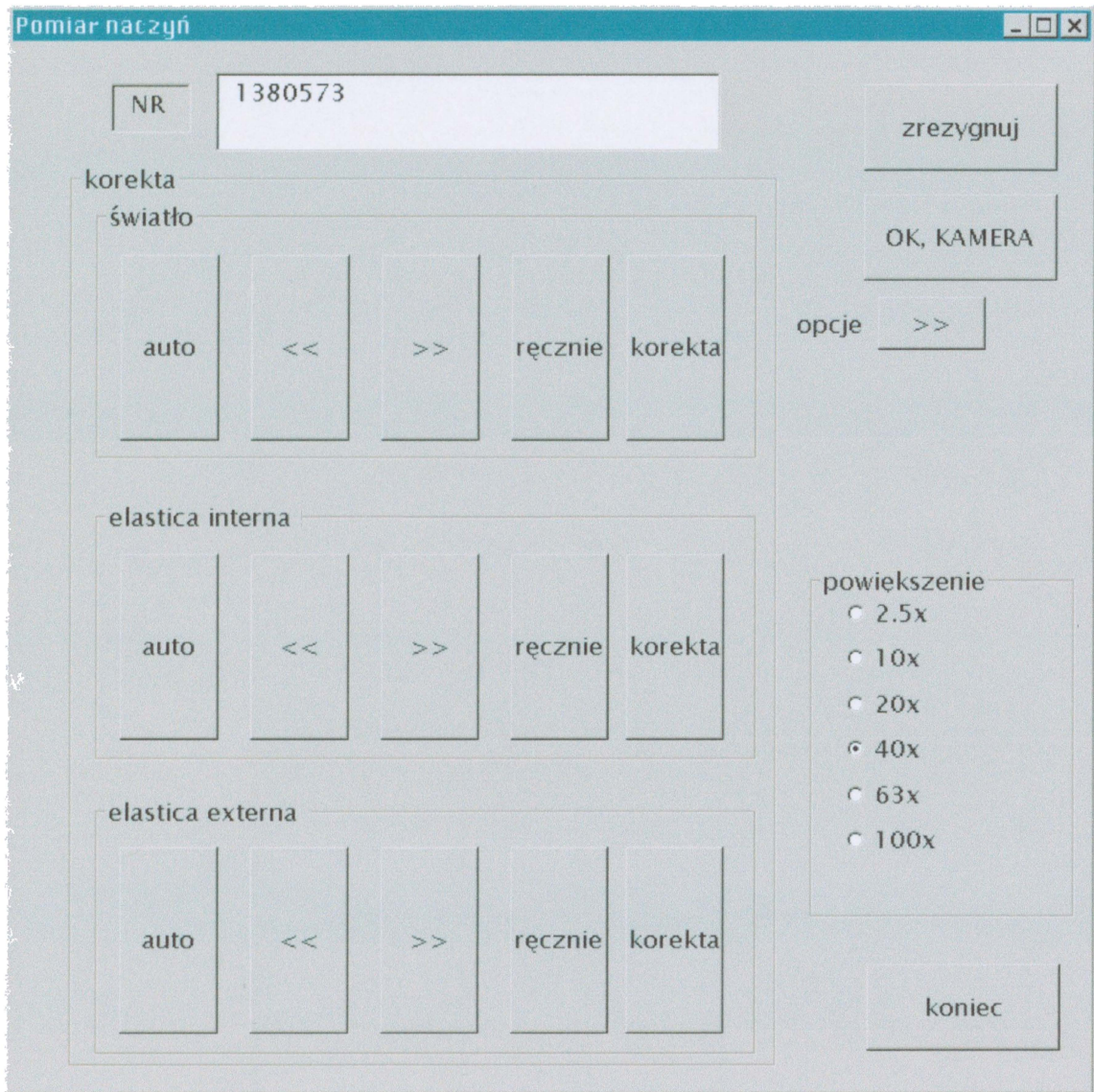
Zmiany szkliste w drobnych naczyniach oceniano za pomocą indeksu zmian szklistych. Do tego celu posłużono się preparatami barwionymi metodą paS (fot. 28 i 29). Cała powierzchnia skrawka była przeglądana systematycznie w powiększeniu 400-krotnym. Liczono wszystkie drobne naczynia obecne w biopłacie, na podstawie rozległości zmian szklistych przyporządkowując je do następujących kategorii: 1) bez zmian szklistych, 2) zmiany szkliste obejmujące mniej niż połowę obwodu naczynia, 3) zmiany szkliste obejmujące więcej niż połowę obwodu, ale nie cały obwód, 4) zmiany szkliste obejmujące cały obwód naczynia. Liczebności dla poszczególnych kategorii wprowadzono do arkusza kalkulacyjnego i obliczono indeks zmian szklistych zdefiniowany jako:

$$I = \frac{N_1 + 2*N_2 + 3*N_3 + 4*N_4}{N_1 + N_2 + N_3 + N_4}$$

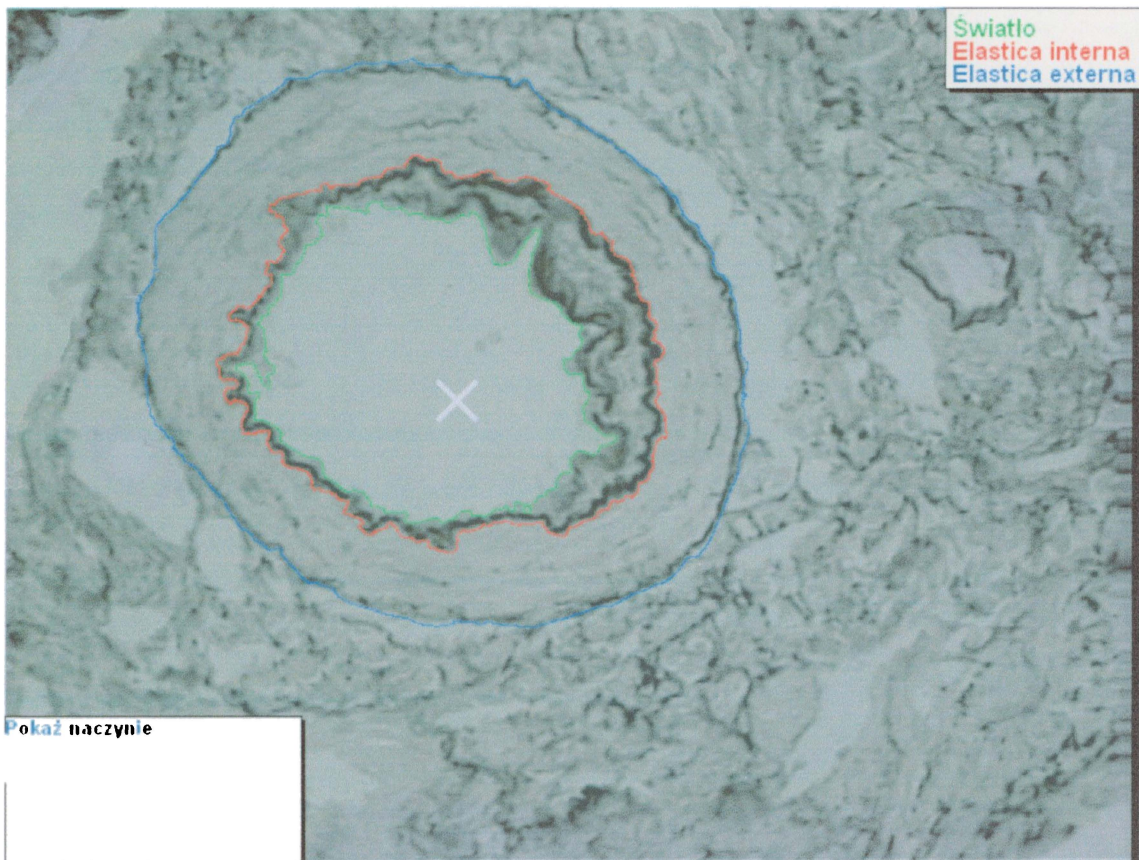
gdzie :

- N_1 - liczba naczyń kategorii 1,
 N_2 - liczba naczyń kategorii 2,
 N_3 - liczba naczyń kategorii 3,
 N_4 - liczba naczyń kategorii 4.

Rycina 4. Okno dialogowe programu służącego do pomiaru zmian w obrębie tętnic.



Rycina 5. Wynik identyfikacji składników ściany tętnicy.



7 Dane kliniczne

Do analizy włączono podstawowe dane kliniczne. Obejmowały one przede wszystkim parametry określające czynność nerki w okresie w którym wykonywano biopsję, a więc poziom kreatyniny i mocznika w osoczu. Ze względu na patogenetyczną rolę białkomoczu uwzględniono także białkomocz dobowy. Ponadto do analizy włączono dane dotyczące wartości ciśnienia tętniczego krwi. W wypadku istnienia wielu wyników badań, brano pod uwagę pierwszy i ostatni wynik, a więc najczęściej dane w chwili przyjęcia, oraz w chwili wypisania pacjenta z oddziału. W części przypadków były dostępne dane dotyczące rozwoju obrazu klinicznego w latach następujących po wykonanej biopsji. W takich przypadkach wzięto pod uwagę pierwsze wartości badań uzyskane w danym roku kalendarzowym. Wartości laboratoryjne wyrażone były w jednostkach układu SI, lub jeśli wyrażone w jednostkach tradycyjnych, były przeliczone na jednostki SI. Dla ciśnienia tętniczego krwi, wyrażonego w mmHg, obliczono także wartość średnią zdefiniowaną jako

$$\overline{RR} = \frac{RR_{skurczowe} + 2 \cdot RR_{rozkurczowe}}{3}$$

Dla oceny rokowania zanotowano dane o stosowanym leczeniu nerkozastępczym w postaci hemodializ lub dializ otrzewnowych.

8 Grupa kontrolna

Przy badaniach ilościowych konieczna jest odniesienie wyników do grupy kontrolnej. Jej obecność umożliwia porównanie z wartościami charakteryzującymi zdrową populację. Niestety, w wypadku biopsji nerki uzyskanie idealnej grupy kontrolnej jest trudne. Materiał w takiej grupie powinien być pobrany i przeprowadzony w identyczny sposób jak w grupie doświadczalnej, a jednocześnie musi pochodzić ze zdrowej populacji. Ze względu na niemożliwość uzyskania takiego 'idealnego' materiału, postanowiono posłużyć się grupami kontrolnymi obejmującymi taki materiał, jaki jest dostępny.

Grupę kontrolną stanowiły preparaty pobierane z makroskopowo niezmiennego mięszu operacyjnie usuniętych nerek oraz pobranego sekcyjnie. Wykluczono przypadki w których rozpoznano pierwotne mięszzowe choroby nerek, a także cukrzycę, kolagenozy i skrobiawica. Materiał sekcyjny ograniczono do przypadków sekcji przeprowadzonych w najwyżej 24 godziny po zgonie. Preparaty nerek z wyselekcjonowanych przypadków zostały ponownie przejrane i wyłączone te, w których stwierdzono cechy autolizy lub zmiany patologiczne, sprowadzające się w tych przypadkach do ognisk bliznowacenia, oraz drobnych, podtorebkowych nacieków z komórek jednojądrzastych. Ostatecznie grupa kontrolna składała się z 11 przypadków, (2 sekcyjne i 9 operacyjnych).

Z archiwalnych kostek parafinowych pochodzących z tak wyselekcjonowanych przypadków wykonano skrawki grubości 4 μ m, które wybarwiono podobnie jak materiał biopsyjny metodami PAMS i orceinową. Kontrolę grubości preparatu przeprowadzono analogicznie jak w wypadkach biopsyjnych.

Tabela 1. Rozpoznanie w grupie kontrolnej.

nr badania	wiek	pleć	choroba zasadnicza
120 649	42	M	rak okolicy głowy trzustki
120 734	62	M	zawał mięśnia sercowego
1 376 096	56	M	guz nerki - adrenal rest
1 376 288	71	K	rak jasnokomórkowy nerki
1 380 573	28	K	<i>angiomyolipoma</i>
1 382 631	58	K	<i>oncocytoza</i>
1 383 796	72	K	rak jasnokomórkowy nerki
1 387 701	42	K	rak jasnokomórkowy nerki
1 388 857	68	K	rak jasnokomórkowy nerki
1 389 368	37	M	rak jasnokomórkowy nerki
1 390 699	72	M	rak jasnokomórkowy nerki

8.1 Wartości odniesienia uzyskane przez innych autorów badających zmiany pozakłębuszkowe u ludzi nie wykazujących cech kłębuszkowych chorób nerek.

W literaturze można znaleźć wartości pomiarów niektórych parametrów pozakłębuszkowych uzyskanych z dużych serii pacjentów nie wykazujących cech chorób, a w szczególności cech kłębuszkowych zapaleń nerek. Takie wartości mogą stanowić uzupełnienie z konieczności niewielkiej własnej grupy kontrolnej. Dane dotyczące zdrowych pacjentów były uzyskiwane na podstawie materiału sekcyjnego lub co cenniejsze biopsji 'zerowych' wykonywanych w ramach oceny potencjalnego dawcy przeszczepu. Publikowane wyniki mają postać bądź wartości tabelaryzowanych, bądź jawnie podanych liniowych równań regresji, określających zależność tych parametrów od wieku. Taka postać zależności pozwala na obliczenie wartości oczekiwanych w indywidualnych przypadkach i porównanie ich z wartościami empirycznymi pochodzącymi z pomiaru.

Dla przypadków badanych w niniejszej pracy obliczono oczekiwane wartości odsetka objętości kory nerki zajętej przez podścielisko i odsetka zeszklwiałych kłębuszków posługując się następującymi równaniami:

$$\text{odsetek zeszklwiałych kłębuszków} = -1,20 + 0,06 * \text{wiek w latach}$$

$$\text{frakcja podścieliska} = 12,45 + 0,11 * \text{wiek w latach}$$

Pochodzą one z opracowania Kappela i dotyczą materiału pobranego od dawców przeszczepów. Wybór taki był podyktowany tym, że wydają się być wiarygodnym odzwierciedleniem wartości występujących w zdrowej populacji.

9 Statystyka

Obliczenia statystyczne przeprowadzono za pomocą programu Statistica for Windows, wersja 5.5 PL (StatSoft Inc., USA). Do oceny różnic pomiędzy zmiennymi posłużono się nieparametryczną metodą analizy wariancji według Kruskal-Wallisa, dla porównywania wielu grup danych, a gdy badane zmienne miały rozkład normalny także sporadycznie jednowymiarową ANOVA z zastosowaniem metod porównań post hoc. Przy porównywaniu dwu grup między sobą stosowano test U Mann-Whitneya dla porównywania średnich, oraz test serii Walda-Wolfowitza, który wrażliwy jest także na różnice kształtów rozkładu. Sporadycznie, gdy badane zmienne charakteryzowały się rozkładem normalnym stosowano test t-Studenta. W porównywaniu zmiennych powiązanych stosowano metodę ANOVA Friedmana i test Wilcoxon. Do wykazywania związków pomiędzy zmiennymi posłużono się współczynnikiem korelacji rang Spearmana, a także współczynnikiem Pearsona. Gdy zmienne przybierały nieliczne, powtarzające się wartości stosowano współczynnik gamma. Do porównania rozkładu empirycznego zmiennych z rozkładami teoretycznymi (w szczególności z rozkładem normalnym) posłużył test Komogorowa-Smirnowa. Do określenia, które czynniki wpływają na rokowanie zastosowano techniki analizy przeżycia, w szczególności model regresyjny Coxa.

Jako znamienne przyjęto poziom istotności 0,05; w dyskusji otrzymanych wyników uwzględniono także zależności o poziomie istotności $p \in (0,05; 0,1)$. W tekście pracy takie wyniki są określane jako 'mało istotne' lub jako 'tendencja do występowania zależności'.

Wyniki

1 Rozpoznanie histologiczne

Postawiono następujące rozpoznania:

- glomerulopatia minimalna 14 pacjentów (15 biopsji). W 5 z tych przypadków na terenie kłębków w badaniu immunofluorescencyjnym stwierdzono obecność niewielkich ilości złogów immunoglobulin.
- ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków 5 przypadków
- glomerulopatia błoniasta 24 przypadki (26 biopsji)
- błoniasto-rozplamowe kłębuszkowe zapalenie nerek 13 przypadków, w tym 11 typu I i 2 typu II.
- choroba gęstych złogów 1 przypadek (2 biopsje)
- postreptokokowe kłębuszkowe zapalenie nerek 4 przypadki
- zewnątrzłóśniczkowe rozplamowe kłębuszkowe zapalenie nerek 1 przypadek
- glomerulopatia mezangialna 14 przypadków
- choroba Bergera 34 przypadków (36 biopsji)
- fibrillary glomerulonephritis 1 przypadek (2 biopsje)
- plamica Shoenleina-Henocha 2 przypadki
- przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek 7 przypadków
- ogniskowe rozplamowe kłębuszkowe zapalenie nerek 1 przypadek
- w 6 przypadkach obraz histologiczny nie odpowiadał jednoznacznie żadnej z wymienionych kategorii

2 Wiek i płeć pacjentów

Badana grupa liczyła 138 pacjentów, w tym 51 kobiet i 87 mężczyzn. Średni wiek pacjentów wynosił 35,92 lat, przy odchyleniu standardowym 16,11 i zakresie 15 do 77 lat. Wiek miał rozkład normalny (wartość testu Komogorowa-Smirnowa nie jest istotna statystycznie).

Dla kobiet średni wiek wynosił 40,53 (zakres 15 do 77 lat, przy odchyleniu standardowym 15,78). Dla mężczyzn średni wiek w badanej grupie wynosił 33,40 lat (zakres 15 do 76, przy odchyleniu standardowym 15,81). Różnice pomiędzy średnim wiekiem dla mężczyzn i kobiet były istotne statystycznie ($p < 0,01$).

Grupa kontrolna liczyła 11 przypadków, w tym 6 kobiet i 5 mężczyzn. Średni wiek w grupie kontrolnej wynosił 55,82 lat (zakres 28 do 72, przy odchyleniu standardowym 16,02). W grupie kontrolnej różnice wieku pomiędzy płciami nie były istotne statystycznie ($p=0,78$); wiek w grupie kontrolnej był natomiast znamienne wyższy niż w grupie doświadczalnej ($p < 0,001$).

Wiek i płeć pacjentów dla poszczególnych rozpatrywanych nefropatii przedstawia tabela 2.

Tabela 2. Wiek i płeć pacjentów według rodzajów glomerulopatii.

rozpoznanie	płeć		wiek	
	m	k	średnia	SE
nefropatia minimalna	10	5	23,60	0,47
ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	5	0	34,20	3,87
nefropatia błoniasta	14	10	48,04	0,67
choroba Bergera	25	11	33,51	0,43
glomerulopatia mezangialna	9	5	35,77	1,22
postreptokokowe kłębuszkowe zn	4	0	22,50	1,51
zewnątrzłośniczkowe rozplemowe kzn	0	1	35,00	0,00
ogniskowe rozplemowe kzn	0	1	29,00	0,00
błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zn	7	6	29,30	0,93
choroba gęstych złogów	2	0	26,00	0,71
plamica Shoenleina-Henocha	1	1	17,50	0,35
fibrillary glomerulonephritis	0	2	53,00	0,00
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	3	4	52,14	1,74
przypadki niesklasyfikowane	4	2	37,33	1,76

3 Całkowita ilość kłębuszków w biopsjacie i kłębuszki całkowicie zeszkliwiałe.

Średnia ilość kłębuszków wynosiła 14,12, przy medianie 12. Minimalna ilość kłębuszków wynosiła 6 (z założenia, jako że taką przyjęto granicę reprezentatywności). Maksymalna ilość to 49 kłębuszków. Odchylenie standardowe ilości kłębuszków wynosiło 7,36.

Średnia ilość kłębuszków z wyłączeniem całkowicie zeszkliwiałych wynosiła 12,81, przy medianie 11. Maksymalna ilość zachowanych kłębuszków to 48. Odchylenie standardowe wynosiło 7,21.

W 78 (54,1%) biopsjach nie stwierdzono całkowicie zeszkliwiałych kłębuszków. W 57 (39,6%) było ich od 1 do 5. W 7 przypadkach (4,9%) było ich 6 do 10. W 2 przypadkach (1,4%) było ich od 11 do 15. W całym materiale średnia ilość zeszkliwiałych kłębuszków wynosiła 1,31, natomiast w grupie 66 przypadków w których kłębuszki zeszkliwiałe występowały, średnia wynosiła 2,86, przy medianie 2, a odchyleniu standardowym 2,98.

W grupie kontrolnej średni odsetek zeszkliwiałych kłębuszków wynosił 3,3%, gdy w grupie doświadczalnej 8,7%; różnica ta nie jest jednak istotna statystycznie.

Spośród poszczególnych rodzajów nefropatii, najwyższy odsetek zachowanych kłębuszków występował w glomerulopatii minimalnej (100%), najniższy odsetek występował w grupie przewlekłego kłębuszkowego zapalenia nerek (49%).

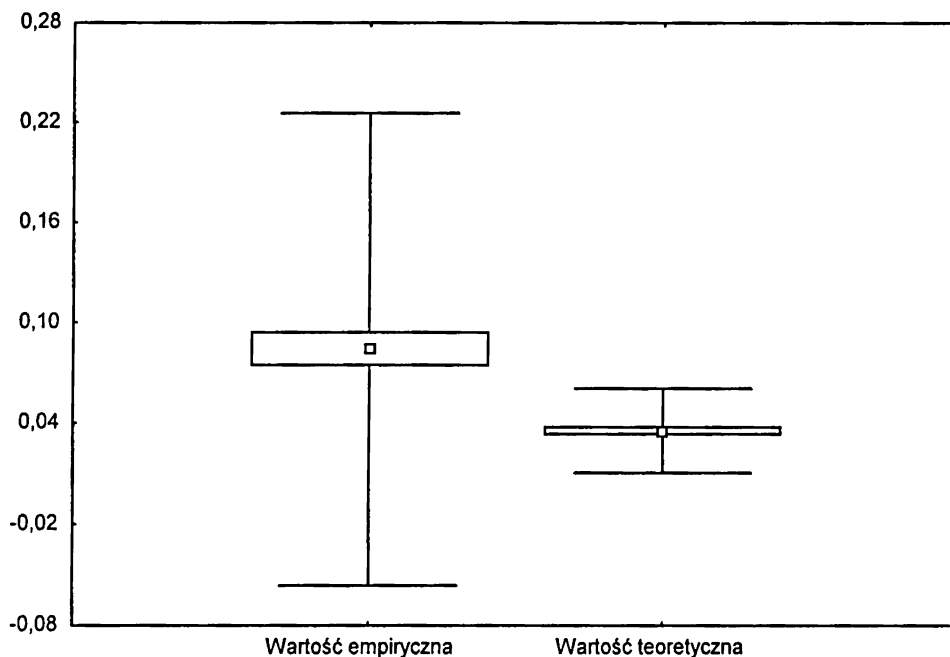
Odsetki zeszkliwiałych kłębuszków dla poszczególnych rozpatrywanych nefropatii przedstawia tabela 3.

Tabela 3. Odsetki zeszkliwiałych kłębuszków wg rodzajów glomerulopatii.

rozpoznanie	odsetek zeszkliwiałych kłębuszków	
	średnia	SE
nefropatia minimalna	0,00	0,00
ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	0,20	0,05
nefropatia błoniasta	0,03	0,00
choroba Bergera	0,09	0,00
glomerulopatia mezangialna	0,04	0,00
postreptokokowe kłębuszkowe zn	0,03	0,01
zewnątrzwołośniczkowe rozplemowe kzn	0,40	0,00
ogniskowe rozplemowe kzn	0,14	0,00
błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zn	0,05	0,01
choroba gęstych złogów	0,16	0,01
plamica Shoeneleina-Henocha	0,00	0,00
fibrillary glomerulonephritis	0,06	0,04
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	0,41	0,02
przypadki niesklasyfikowane	0,06	0,01
kontrola	0,03	0,00
różnice pomiędzy grupami są istotne (w teście Kruskal-Wallis p=0,0076)		

Odsetek zeszkliwiałych kłębuszków wykazywał istotny statystycznie, dodatni związek z wiekiem pacjentów ($r=0,25$ $p=0,003$; $R=0,29$ $p<0,0006$). Posługując się danymi z literatury określającymi oczekiwany odsetek zeszkliwiałych kłębków w zależności do wieku pacjentów, obliczono takie spodziewane wartości. Wartości empirycznie uzyskane przez zliczenie były wyższe, co przedstawia rycina 6.

Różnice pomiędzy wartościami teoretycznymi a empirycznymi były znamienne statystycznie (w teście Wilcoxon dla danych powiązanych $p<0,037$).



Rycina 6. Odsetek kłębuszków zeszkliwiających otrzymany przez pomiar a wartości teoretyczne, obliczone na podstawie wieku pacjentów.

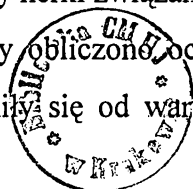
4 Odsetek objętości kory nerki zajętej przez podścielisko oraz nacieki podścieliskowe.

Odsetek objętości kory nerki zajętej przez podścielisko charakteryzował się rozkładem log-normalnym (wartość testu Komogorowa-Smirnowa nie jest znamienna statystycznie).

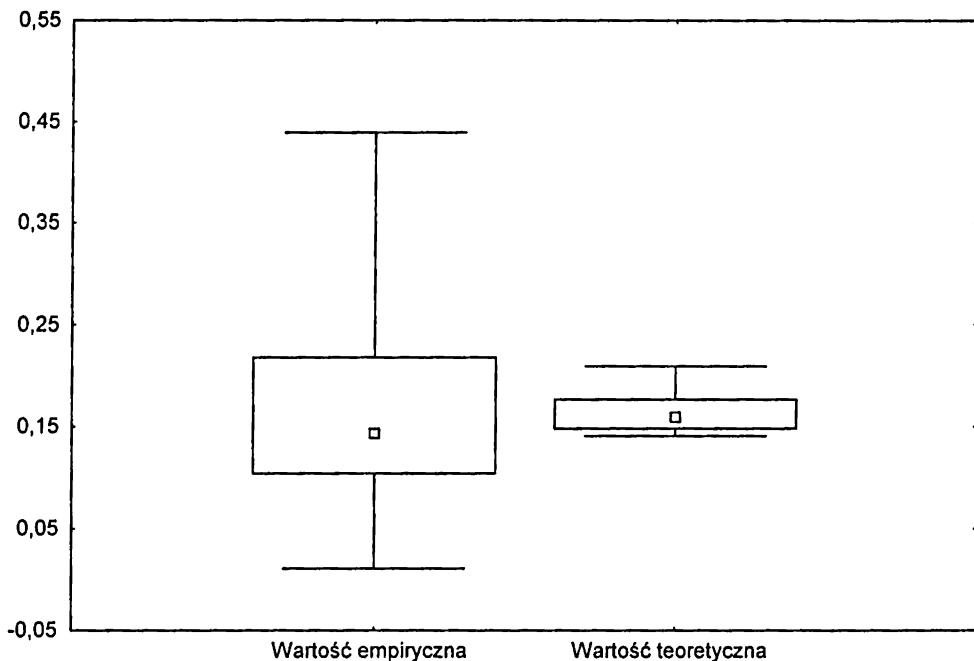
Odsetek objętości kory nerki zajętej przez podścielisko w grupie kontrolnej wynosił średnio 6,8%, przy zakresie 3,7 do 10,7 i przy odchyleniu standardowym 2,1. W grupie badanej odsetek ten wynosił 16,6%, przy zakresie 1,0 do 43,9 i przy odchyleniu standardowym 8,5. Różnica pomiędzy grupą kontrolną, a badaną jest wysoce znamienna statystycznie ($p=0,00002$ w teście Mann-Whitneya, w teście t-Studenta $p=0,000234$ a więc daje podobne wyniki chociaż zastosowanie testu paramerycznego nie jest tu, ze względu na charakterystykę danych uprawnione).

Objętość podścieliska wykazuje słabą, ale istotną statystycznie korelację z wiekiem pacjenta (współczynnik korelacji rang Spearmana $R=0,175$ $p=0,02$). Nie stwierdzono natomiast różnic w względnej objętości podścieliska kory nerki związanych z płcią chorych.

Posługując się danymi z literatury obliczone i oczekiwany odsetek objętości podścieliska w zależności od wieku; wartości różniły się od wartości empirycznych otrzymanych na drodze



pomiarowej (Friedman ANOVA $p=0,06$). Przy zbliżonych wartościach średnich (0,16 dla pomiarów empirycznych wobec 0,17 dla obliczenia na podstawie wieku), rzeczywista frakcja objętości podścieliska charakteryzowała się większym zakresem wartości i zmiennością (od 0,01 do 0,44 przy odchyleniu standardowym 0,084 i błędzie standardowym 0,007 wobec zakresu od 0,14 do 0,21 przy odchyleniu standardowym 0,018 i błędzie standardowym 0,0016). Różnice pomiędzy odsetkami objętości kory nerki zajętej przez podścielisko przedstawia rycina 7.



Rycina 7. Zmierzone i oczekiwane wartości odsetka objętości kory nerki zajętej przez podścielisko.

Oczywiście teoretyczne wartości objętości podścieliska, będąc liniową funkcją wieku, wykazują identyczny związek ze zmierzoną objętością podścieliska, jak wiek chorych.

Nacieki podścieliskowe występowały wyłącznie w grupie badanej, w 31 przypadkach. Cecha ta miała rozkład normalny (wartość testu Komogorowa-Smirnowa nie jest istotna statystycznie). W tych przypadkach średni odsetek zajętej przez naciek kory nerki wynosił 3,3% przy zakresie 0,6 do 10,7 i przy odchyleniu standardowym 2,8. Wartości dla poszczególnych grup przedstawia tabela 4.

Wzrost ilości podścieliska w bioptacie nerki, a także nacieki zapalne w obrębie śródmiaższu może mieć charakter ogniskowy, w postaci odpowiednio - ognisk bliznowacenia, lub ogniskowych nacieków zapalnych. Jako miarę zmienności objętości podścieliska a także nacieków przyjęto wariancję odsetka objętości kory zajętego przez odpowiednio podścielisko i nacieki komórkowe pomiędzy poszczególnymi polami widzenia.

Tabela 4. Odsetek objętości kory nerki zajęty przez podścielisko oraz nacieki podścieliskowe wg. rodzajów glomerulopatii.

rozpoznanie	podścielisko		nacieki	podścieliskowe	
	średnia	SE	N (%)	średnia	SE
nefropatia minimalna	0,118	0,004	0,0	0,000	0,000
ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	0,210	0,019	40,0	0,009	0,003
nefropatia błoniasta	0,127	0,003	8,3	0,005	0,001
choroba Bergera	0,158	0,002	27,8	0,008	0,001
glomerulopatia mezangialna	0,136	0,004	14,3	0,001	0,000
postreptokokowe kłębuszkowe zn	0,201	0,019	0,0	0,000	0,000
zewnątrzwośniczkowe rozplemowe kzn	0,288	0,000	100,0	0,079	0,000
ogniskowe rozplemowe kzn	0,137	0,000	0,0	0,000	0,000
błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zn	0,194	0,003	46,2	0,016	0,002
choroba gęstych złogów	0,297	0,021	100,0	0,030	0,015
plamica Shoenleina-Henocha	0,119	0,015	0,0	0,000	0,000
fibrilary glomerulonephritis	0,125	0,011	0,0	0,000	0,000
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	0,322	0,013	71,4	0,025	0,003
przypadki niesklasyfikowane	0,166	0,018	16,7	0,006	0,003
kontrola	0,068	0,002	0,0	0,000	0,000
różnice pomiędzy grupami są istotne	Kruskall-Wallis p <0,0001		χ^2 p=0,003	Kruskall-Wallis p =0,0018	

Zmienność względnej objętości podścieliska kory nerki wynosiła średnio 0,0065 przy zakresie od 0,000042 do 0,036 i odchyleniu standardowym 0,0065. Zmienność odsetka kory nerki zajętego przez nacieki podścieliskowe, w grupie gdzie takie nacieki występowały, wynosiła średnio 0,010 przy zakresie od 0 do 0,080 i odchyleniu standardowym 0,018. Zmienność objętości podścieliska oraz nacieków podścieliskowych dla poszczególnych typów histologicznych nefropatii przedstawia tabela 5.

5 Zmiany objętości podścieliska nerki w wypadku glomerulopatii minimalnej.

Odsetek objętości kory nerki zajęty przez podścielisko jest w glomerulopatii minimalnej niski i zbliżony do wartości stwierdzanych w grupie kontrolnej; różnice pomiędzy tymi dwoma grupami nie są istotne statystycznie (p=0,363).

Jak wspomniano, w części przypadków spełniających morfologiczne kryteria glomerulopatii minimalnej stwierdza się w badaniu immunofluorescencyjnym obecność skąpych złogów immunoglobulin. Objętość podścieliska w przypadkach z obecnością immunoglobulin jest wyższa niż w wypadkach typowych (0,081 wobec 0,181; różnica ta jest istotna statystycznie p < 0,001).

Tabela 5. Zmienność odsetka kory nerki zajętego przez podścielisko i nacieki zapalne wg rodzajów glomerulopatii.

rozpoznanie	zmienność podścieliska		zmienność nacieków podścieliskowych	
	średnia	SE	średnia	SE
nefropatia minimalna	0,003	0,000	0,000	0,000
ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	0,011	0,001	0,002	0,001
nefropatia błoniasta	0,006	0,000	0,001	0,000
choroba Bergera	0,006	0,000	0,001	0,000
glomerulopatia mezangialna	0,005	0,000	0,000	0,000
postreptokokowe kłębuszkowe zn	0,012	0,004	0,000	0,000
zewnętrzwośniczkowe rozplemowe kzn	0,012	0,000	0,026	0,000
ogniskowe rozplemowe kzn	0,004	0,000	0,000	0,000
błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zn	0,009	0,001	0,009	0,002
choroba gęstych złogów	0,010	0,001	0,009	0,006
plamica Shoenleina-Henocha	0,003	0,000	0,000	0,000
fibrillary glomerulonephritis	0,002	0,001	0,000	0,000
zespół Alporta	0,005	0,002	0,000	0,000
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	0,018	0,001	0,010	0,002
przypadki niesklasyfikowane	0,005	0,001	0,004	0,002
kontrola	0,002	0,000	0,000	0,000
różnice pomiędzy grupami są istotne (w teście Kruskal-Wallis)	p=0,0002		p=0,01	

6 Kanaliki

Średnia całkowitej powierzchni przekroju kanalika bliższego wynosiła 2,76 przy zakresie od 0,66 do 4,96 i odchyleniu standartowym 0,88. Średnia powierzchni przekroju światła kanalika bliższego wynosiła 0,36 przy zakresie od 0,018 do 1,18 i odchyleniu standartowym 0,21. Średnia powierzchni przekroju komórek nabłonka kanalika bliższego wynosiła 2,40 przy zakresie od 0,65 do 4,87 i odchyleniu standartowym 0,80.

W grupie kontrolnej średnia całkowitej powierzchni przekroju kanalika bliższego wynosiła 3,47 przy zakresie od 2,71 do 4,34 i odchyleniu standartowym 0,43. Średnia powierzchni przekroju światła kanalika bliższego wynosiła 0,38 przy zakresie od 0,14 do 0,74 i odchyleniu standartowym 0,18. Średnia powierzchni przekroju komórek nabłonka kanalika bliższego wynosiła 3,09 przy zakresie od 2,30 do 3,77 i odchyleniu standartowym 0,41.

Różnice w powierzchni przekroju komórek oraz całkowitej powierzchni przekroju kanalików bliższych pomiędzy grupą kontrolną, a doświadczalną były istotne statystycznie (odpowiednio $p < 0,001$ i $p < 0,002$), natomiast różnice w polu światła kanalików bliższych nie były istotne statystycznie ($p = 0,56$).

Wartości dla poszczególnych rodzajów glomerulopatii przedstawia tabela 6.

Tabela 6 Wyniki pomiarów powierzchni przekroju kanalików bliższych wg. rodzajów glomerulopatii.

rozpoznanie	nabłonek		światło		całość	
	średnia	SE	średnia	SE	średnia	SE
nefropatia minimalna	2,52	0,04	0,32	0,01	2,84	0,04
ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	3,00	0,23	0,23	0,03	3,23	0,22
nefropatia błoniasta	2,41	0,03	0,35	0,01	2,76	0,04
choroba Bergera	2,30	0,02	0,35	0,01	2,65	0,03
glomerulopatia mezangialna	2,44	0,06	0,30	0,01	2,74	0,06
postreptokokowe kłębuszkowe zn	1,76	0,13	0,21	0,06	1,97	0,12
zewnątrzwośniczkowe rozplemowe kzn	1,93	0,00	0,94	0,00	2,87	0,00
ogniskowe rozplemowe kzn	3,94	0,00	0,93	0,00	4,87	0,00
błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zn	2,11	0,05	0,34	0,01	2,45	0,05
choroba gęstych złogów	1,28	0,11	0,19	0,09	1,47	0,02
plamica Shoenleina-Henocha	2,18	1,08	0,46	0,33	2,64	1,40
fibrillary glomerulonephritis	3,01	0,13	0,42	0,07	3,44	0,06
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	2,09	0,09	0,32	0,02	2,42	0,07
przypadki niesklasyfikowane	2,15	0,14	0,55	0,05	2,71	0,18
kontrola	3,09	0,04	0,38	0,02	3,47	0,04
	p = 0,0065		p = 0,3328 (NS)		p = 0,0121	

Średnia całkowitej powierzchni przekroju kanalika dalszego wynosiła 1,23 przy zakresie od 0,077 do 3,20 i odchyleniu standartowym 0,64. Średnia powierzchni przekroju światła kanalika dalszego wynosiła 0,42 przy zakresie od 0,02 do 1,12 i odchyleniu standartowym 0,21. Średnia powierzchni przekroju komórek nabłonka kanalika dalszego wynosiła 0,81 przy zakresie od 0,051 do 2,23 i odchyleniu standartowym 0,45.

W grupie kontrolnej średnia całkowitej powierzchni przekroju kanalika dalszego wynosiła 2,01 przy zakresie od 0,62 do 2,95 i odchyleniu standartowym 0,73. Średnia powierzchni przekroju światła kanalika dalszego wynosiła 0,56 przy zakresie od 0,04 do 0,87 i odchyleniu standartowym 0,25. Średnia powierzchni przekroju komórek nabłonka kanalika dalszego wynosiła 1,44 przy zakresie od 0,59 do 2,13 i odchyleniu standartowym 0,50.

Wyniki dla grupy kontrolnej i doświadczalnej różniły się w zakresie powierzchni przekroju nabłonka kanalikowego, przekroju światła i pola przekroju całkowitego kanalika dalszego (odpowiednio $p < 0,0002$; $p < 0,03$; $p < 0,001$)

Wyniki w poszczególnych typach glomerulopatii przedstawia tabela 7.

Tabela 7. Wyniki pomiarów powierzchni przekroju kanalików dalszych wg rodzajów glomerulopatii.

rozpoznanie	nabłonek		światło		całość	
	średnia	SE	średnia	SE	średnia	SE
nefropatia minimalna	0,91	0,03	0,44	0,01	1,35	0,04
ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	1,14	0,09	0,61	0,04	1,74	0,13
nefropatia błoniasta	0,89	0,02	0,46	0,01	1,34	0,03
choroba Bergera	0,57	0,01	0,36	0,01	0,93	0,01
glomerulopatia mezangialna	0,58	0,03	0,32	0,02	0,89	0,05
postreptokokowe kłębuszkowe zn	0,73	0,11	0,38	0,05	1,11	0,17
zewnątrzwołniczkowe rozplemowe kzn	1,32	0,00	0,85	0,00	2,17	0,00
ogniskowe rozplemowe kzn	0,75	0,00	0,50	0,00	1,25	0,00
błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zn	0,83	0,03	0,40	0,02	1,24	0,05
choroba gęstych złogów	0,56	0,06	0,40	0,08	0,96	0,14
plamica Shoenleina-Henocha	0,57	0,27	0,32	0,02	0,89	0,29
fibrillary glomerulonephritis	0,34	0,24	0,20	0,14	0,54	0,38
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	0,55	0,05	0,25	0,02	0,80	0,07
przypadki niesklasyfikowane	0,53	0,03	0,27	0,02	0,80	0,05
kontrola	1,44	0,05	0,56	0,02	2,00	0,07

Przekroje całkowite kanalika bliższego i dalszego wykazywały dodatnią, istotną statystycznie korelację ($R=0,28$ $p=0,001$), podobnie jak ich przekroje całkowite ($R=0,28$ $p=0,001$), natomiast pola przekroju światła kanalików bliższego i dalszego nie wykazywały istotnego związku statystycznego ($R=0,03$ $p=0,75$).

Żadna ze zmiennych opisujących kanaliki nie wykazywała istotnego statystycznie związku z wiekiem pacjentów. Kanaliki dystalne miały nieco większe rozmiary w grupie kobiet, ale różnica nie osiągała poziomu istotnego statystycznie (współczynnik istotności różnic odpowiednio dla komórek nabłonka, światła i całych kanalików wynosił 0,08 0,08 i 0,06). Kanaliki bliższe nie wykazywały istotnych statystycznie różnic uwarunkowanych płcią pacjentów.

7 Korelacje pomiędzy parametrami kanalikowymi a podścieliskowymi.

Fracja objętości kory nerki zajęta przez podścielisko wykazywała ujemną korelację z polem przekroju nabłonka kanalika bliższego ($R= -0,41$ $p < 0,000001$) i w mniejszym stopniu dalszego ($p= -0,20$ $p < 0,02$); z całkowitym polem przekroju kanalika bliższego ($R= -0,41$ $p < 0,000001$) i dalszego ($R= -0,18$ $p < 0,035$); związki frakcji podścieliska ze światłem kanalików nie były

istotne statystycznie (światło kanalika bliższego $R = -0,15$ $p = 0,08$ światło kanalika dalszego $R = -0,14$ $p = 0,11$).

Zmienność frakcji podścieliska silnie ujemnie wiązała się z całkowitym polem przekroju kanalika bliższego ($R = -0,42$ $p < 0,0000002$), przekrojem nabłonka kanalika bliższego ($R = -0,43$ $p < 0,0000002$); podobne choć słabsze związki występowały w odniesieniu do całkowitego pola kanalika dalszego ($R = -0,19$ $p < 0,024$) i pola przekroju nabłonka kanalika dalszego ($R = -0,21$ $p < 0,013$) nie występowały natomiast związki z polem przekroju światła kanalika bliższego ($R = -0,09$ $p < 0,3$), ani dalszego ($R = -0,12$ $p < 0,15$).

Fracja objętości kory nerki zajętej przez nacieki podścieliskowe wykazywała ujemny związek z polem przekroju nabłonka ($R = -0,28$ $p < 0,0007$) i całkowitym polem przekroju kanalika bliższego ($R = -0,28$ $p < 0,00062$). Związki nacieków podścieliskowych ze światłem kanalika bliższego, przekrojem całkowitym, polem przekroju nabłonka i światłem kanalika dalszego nie były istotne statystycznie. Także zmienność nacieków podścieliskowych wiązała się jedynie z całkowitym polem przekroju i polem przekroju nabłonka kanalika bliższego ($R = -0,18$ $p = 0,03$ i $R = -0,19$ $p = 0,03$), natomiast związki z pozostałymi parametrami kanalikowymi nie były istotne statystycznie.

8 Parametry naczyniowe.

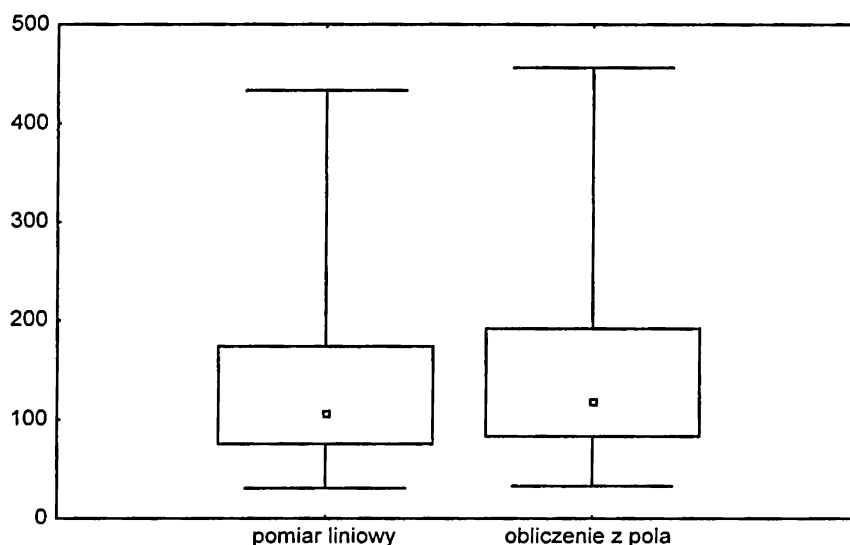
8.1 Pomiary tętnic.

W badanych biopatach znaleziono 134 pełnych przekrojów dobrze zachowanych naczyń tętniczych. Spośród nich, 49 (36,56%) miało średnicę do $100\mu\text{m}$; 55 (41,05%) miało średnicę 100 do $200\mu\text{m}$; 30 (22,39%) miało średnicę ponad $200\mu\text{m}$.

Dla określenia, jakie związki zachodzą pomiędzy oceną średnicy naczynia na podstawie pola przekroju, a pomiarem liniowym określono związki pomiędzy wynikami uzyskanymi oboma metodami. Obie wartości wykazywały silną liniową korelację ($r = 0,82$ $p < 0,001$). Natomiast test Wilcozona wykazał istnienie wysoce istotnych różnic pomiędzy oboma zmiennymi ($p < 0,001$). Na rycinie 8 widać, że pomiar liniowy dawał niższą ocenę rzeczywistej średnicy naczynia. Takie wyniki są zgodne z oczekiwaniami i pozwalają na przyjęcie, że średnica naczynia obliczona na podstawie pola przekroju prawidłowo odzwierciedla średnicę rzeczywistą.

Rozkłady mierzonych parametrów były log- normalne z wyjątkiem parametrów IMT, RMT, IIT które charakteryzowały się rozkładem normalnym.

RIT i IIT wykazywały istotny statystycznie, dodatni związek z liniowym pomiarem grubości błony wewnętrznej ($r = 0,49$ $p < 0,001$ i $r = 0,54$ $p < 0,001$; wyniki otrzymane metodą Spearmana są zresztą zbliżone: $R = 0,47$ i $R = 0,60$). Jeszcze silniejsza korelacja zachodziła między RIT i IIT



Rycina 8. Różnice pomiędzy wynikami oceny średnicy naczyń dokonanej dwoma metodami.

($r=0,84$ $p<0,001$). Współczynniki grubość błony środkowej RMT i IMT nie wykazywały statystycznie istotnego związku z grubością błony wewnętrznej, ani ocenianego metodą Pearsona ($r= -0,05$ i $r=0,04$) ani metodą Spearmana ($R= -0,11$ i $R=0,01$). RMT i IMT wiązały się natomiast ze sobą ($r=0,67$ $p<0,001$).

Średnica światła naczyń wynosiła średnio $57,34\mu\text{m}$, przy zakresie od $7,29$ do $205,03\mu\text{m}$ i błędzie standardowym $3,31$. Średnia grubość błony wewnętrznej wynosiła $19,25\mu\text{m}$, przy zakresie od $1,72$ do $152,80\mu\text{m}$ i błędzie standardowym $1,70$. Średnia grubość błony środkowej wynosiła $19,49\mu\text{m}$, przy zakresie od $5,95$ do $74,62\mu\text{m}$ i błędzie standardowym $0,90$. Średnica światła naczyń wynosiła średnio $65,68\mu\text{m}$, przy zakresie od $18,09$ do $151,35\mu\text{m}$ i błędzie standardowym $5,88$. Średnia grubość błony wewnętrznej wynosiła $36,17\mu\text{m}$, przy zakresie od $7,65$ do $84,46\mu\text{m}$ i błędzie standardowym $3,61$. Średnia grubość błony środkowej wynosiła $26,73\mu\text{m}$, przy zakresie od $6,14$ do $58,29\mu\text{m}$ i błędzie standardowym $2,65$. Różnice pomiędzy grupą doświadczalną i kontrolną były istotne w wypadku grubości błony środkowej ($p=0,03$) i wysoce istotne w wypadku błony wewnętrznej ($p<0,001$).

Średnia wartość RIT wynosiła $0,29$ przy zakresie od $0,05$ do $0,75$ i błędzie standardowym $0,01$. Średnia wartość IIT wynosiła $47,27$ przy zakresie od $7,25$ do $90,70$ i błędzie standardowym $1,71$. W grupie kontrolnej średnia wartość RIT wynosiła $0,38$ przy zakresie od $0,09$ do $0,64$ i błędzie standardowym $0,02$. Średnia wartość IIT wynosiła $64,42$ przy zakresie od $16,11$ do $90,00$ i błędzie standardowym $3,25$. Różnice pomiędzy grupą kontrolną a doświadczalną były istotne statystycznie.

Średnia wartość RMT wynosiła 0,37 przy zakresie od 0,08 do 0,72 i błędzie standardowym 0,01. Średnia wartość IMT wynosiła 42,25 przy zakresie od 11,31 do 81,22 i błędzie standardowym 1,17. W grupie kontrolnej średnia wartość RMT wynosiła 0,31 przy zakresie od 0,13 do 0,52 i błędzie standardowym 0,02. Średnia wartość IMT wynosiła 38,89 przy zakresie od 16,73 do 66,16 i błędzie standardowym 1,92. Różnice w wartościach RMT pomiędzy grupą kontrolną a doświadczalną były istotne statystycznie, natomiast różnice w wartościach IMT były jedynie słabo istotne. Wartości pomiarów naczyń poszczególnych kategorii przedstawia tabela 8.

Tabela 8. Parametry naczyń według średnicy.

	<100 μ m		100-200 μ m		>200 μ m	
	średnia	SE	średnia	SE	średnia	SE
światło	30,70	0,25	55,30	0,40	99,78	1,73
błona środkowa	12,45	0,08	19,24	0,10	28,08	0,45
błona wewnętrzna	7,59	0,10	16,83	0,22	37,94	0,64
RIT	0,29	0,00	0,26	0,00	0,33	0,01
IIT	46,31	0,39	46,02	0,38	51,11	0,63
RMT	0,43	0,00	0,37	0,00	0,27	0,00
IMT	45,30	0,27	43,52	0,23	34,91	0,44

Występował silny, istotny statystycznie związek pomiędzy grubością błony wewnętrznej naczyń a wiekiem pacjenta ($R=0,38$; $p=0,00001$; $r=0,36$ $p<0,001$); związek grubości błony środkowej z wiekiem był słabszy ($R=0,24$; $p=0,01$; $r=0,27$; $p=0,01$). RIT i IIT wykazywały silną, dodatnią korelację z wiekiem pacjenta (odpowiednio $R=0,22$; $p=0,02$ i $R=0,41$; $p=0,00004$). RMT wykazywał słabą, ujemną korelację z wiekiem ($R=-0,19$; $p=0,07$; $r=-0,20$; $p=0,056$), związek IMT z wiekiem miał ten sam kierunek ($R=-0,15$ $p=0,15$; $r=-0,21$ $p=0,036$). Jak można oczekiwać, światło naczyń nie wykazywały istotnego związku statystycznego z wiekiem pacjenta. Związki badanych zmiennych z wiekiem tłumaczą różnice w badanych parametrach naczyń tętnicznych pomiędzy grupą doświadczalną a kontrolną.

Związki pomiędzy wiekiem pacjentów, a parametrami błony wewnętrznej w poszczególnych grupach naczyń przedstawia tabela 9.

Tabela 9. Związki pomiędzy parametrami błony wewnętrznej naczyń, a wiekiem

	<100 μ m		100-200 μ m		>200 μ m	
światło	r= -0,215	p=0,207	r= -0,401	p=0,013	r= -0,125	p=0,590
błona środkowa	r=0,152	p=0,375	r=0,187	p=0,260	r=0,282	p=0,216
błona wewnętrzna	r=0,422	p=0,010	r=0,347	p=0,033	r=0,282	p=0,216
RIT	r=0,245	p=0,150	r=0,311	p=0,057	r=0,286	p=0,209
IIT	r=0,397	p=0,017	r=0,532	p=0,001	r=0,287	p=0,207
RMT	r= -0,116	p=0,502	r= -0,228	p=0,168	r=0,058	p=0,804
IMT	r=0,035	p=0,840	r= -0,503	p=0,001	r=0,149	p=0,521

8.2 Indeks szklwienia drobnych naczyń

Średnia wartość indeksu wynosiła 1,93 przy zakresie od 1 do 3,5 i błędzie standardowym 0,056. Zmiany w drobnych naczyniach w poszczególnych postaciach glomerulopatii przedstawia tabela 10. Indeks szklwienia drobnych naczyń wykazywał istotną statystycznie, dodatnią korelację z wiekiem pacjentów ($r=0,30$ $p=0,0001$ $R=0,33$ $p=0,0003$). Wiązał się też z parametrami podścieliskowymi. Odpowiednie współczynniki korelacji i poziomy istotności przedstawia tabela 11. Nie występowały natomiast istotne statystycznie związki z parametrami kanalikowymi. Występowały natomiast dodatnie korelacje z grubością błony środkowej tętnic ($r=0,31$ $p=0,002$; $R=0,22$ $p=0,026$) i z IIT ($r=0,21$ $p=0,039$; $R=0,22$ $p=0,033$). Grubość błony wewnętrznej dużych tętnic wykazywała słaby związek z indeksem zmian szklzystych drobnych naczyń w teście Spearmana ($R=0,18$ $p=0,08$).

Tabela 10. Indeks szklwienia drobnych naczyń wg rozpoznań.

rozpoznanie	średnia	SE
nefropatia minimalna	1,38	0,03
ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	1,40	0,09
nefropatia błoniasta	2,09	0,03
choroba Bergera	2,07	0,02
glomerulopatia mezangialna	1,75	0,04
postreptokokowe kłębuszkowe zn	1,97	0,29
zewnątrzłośniczkowe rozplemowe kzn	3,17	0,00
ogniskowe rozplemowe kzn	1,89	0,00
błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zn	1,97	0,04
choroba gęstych złogów	2,67	0,00
plamica Shoenleina-Henocha	1,50	0,35
fibrillary glomerulonephritis	2,00	0,00
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	2,17	0,09
przypadki niesklasyfikowane	1,70	0,06
kontrola	1,38	0,08

Tabela 11. Związki pomiędzy indeksem szkliwienia drobnych naczyń a parametrami podścieliskowymi.

	r	p	R	p
odsetek objętości kory zajęty przez podścielisko	0,34	<0,001	0,33	0,0003
zmienność objętości podścieliska	0,32	<0,001	0,28	0,002
odsetek objętości kory zajęty przez nacieki	0,29	0,001	0,26	0,004
zmienność objętości nacieków	0,9	NS	0,19	0,032

9 Związki pomiędzy oceną półilościową a ilościową parametrów pozakłębuszkowych

Zmierzona frakcja objętości kory nerki zajętej przez podścielisko wykazywała wysoce znamienne związki z odsetkiem zwłókniastych kłębuszków ($R = 0,38$ $p < 0,001$), stopniem zaniku kanalików ($\gamma = 0,43$ $p < 0,00001$), stopniem włóknienia podścieliska ($\gamma = 0,27$ $p < 0,00002$) i stopniem włóknienia mezangium kłębuszków ($\gamma = 0,38$ $p < 0,00001$). Półilościowa i ilościowa ocena nasilenia nacieków podścieliskowych także wykazywała bardzo silny związek ($\gamma = 0,74$ $p < 0,001$). Półilościowo oceniany stopień zaniku kanalików wykazywał silny związek ze zmniejszaniem się rozmiarów przekroju całych kanalików proksymalnych ($\gamma = -0,15$ $p = 0,04$) i cytoplazmy komórek nabłonkowych ($\gamma = -0,24$ $p = 0,0015$); związek ze światłem kanalików był dodatni, lecz nieistotny statystycznie ($\gamma = 0,1$ $p = 0,14$).

10 Dane kliniczne

Dane dotyczące poziomu mocznika uzyskano w 81 przypadkach. Średni poziom wynosił 7,42 mmol/l, przy zakresie 2,6 do 33,8 i błędzie standardowym 0,63. Dane dotyczące poziomu kreatyniny uzyskano w 84 przypadkach. Średni poziom wynosił 139,44 $\mu\text{mol/l}$, przy zakresie 35,38 do 1038 i błędzie standardowym 18,45. Wartości poziomów kreatyniny i mocznika w przypadku poszczególnych typów glomerulopatii przedstawia tabela 12.

Dane dotyczące wielkości białkomoczu uzyskano w 90 przypadkach. Średnia wartość wynosiła 4,32g/dobę, przy zakresie od 0 do 29,7 i błędzie standardowym 0,56. Wartości białkomoczu dobowego z podziałem na typy glomerulopatii przedstawia tabela 13.

Dane dotyczące wysokości ciśnienia tętniczego krwi uzyskano w 78 przypadkach. Średnia wartość ciśnienia skurczowego wynosiła 140,64 mmHg przy zakresie od 100 do 240 mmHg i błędzie standardowym 2,96. Średnia wartość ciśnienia rozkurczowego wynosiła 87,95 mmHg przy zakresie od 60 do 170 mmHg i błędzie standardowym 1,88. Średnia wartość ciśnienia

średniego wynosiła 105,51 mmHg przy zakresie od 76,67 do 193,33 mmHg i błędzie standardowym 2,13. Wartości ciśnienia tętniczego w poszczególnych typach glomerulopatii przedstawia tabela 14.

Poziomy mocznika i kreatyniny wykazywały istotną statystycznie, dodatnią korelację z wiekiem pacjentów (odpowiednio $R=0,36$ $p=0,0011$ i $R=0,39$ $p=0,0003$). Różnice poziomu mocznika i kreatyniny pomiędzy mężczyznami i kobietami nie były natomiast istotne statystycznie (odpowiednio $p=0,16$ i $p=0,29$). Co zaskakujące nieparametryczna analiza wariancji Kruskal-Wallisa nie wykazała istotności różnic poziomu mocznika w przypadku różnych postaci glomerulopatii. Różnice poziomów kreatyniny wykazywały natomiast istotność ($p=0,05$).

Poziom białkomoczu nie wykazywał istotnego związku z wiekiem chorych, ani różnic związanych z płcią. Występowały natomiast wysoce znamienne różnice uwarunkowane rodzajem rozpoznanej glomerulopatii ($p < 0,0001$).

Wiek pacjentów wykazywał dodatnią korelację z ciśnieniem tętniczym, zarówno skurczowym, rozkurczowym, jak średnim (odpowiednio $R=0,35$ $p=0,002$; $R=0,20$ $p=0,08$; $R=0,27$ $p=0,02$). Nie występowały natomiast różnice uwarunkowane płcią; jednokierunkowa analiza wariancji nie wykazała też różnic poziomu ciśnienia tętniczego krwi pomiędzy poszczególnymi typami glomerulopatii.

Tabela 12. Wartości parametrów wydolności nerek w okresie wykonywania biopsji, wg typów glomerulopatii

	poziom kreatyniny						poziom mocznika					
	najwyższy		najniższy		średni		najwyższy		najniższy		średni	
	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE
nefropatia minimalna	85,9	4,3	72,9	1,4	79,4	2,4	7,0	0,5	5,3	0,2	6,2	0,3
ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	147,5	16,3	142,5	17,2	145,0	16,7	9,6	0,7	8,8	0,8	9,2	0,7
nefropatia błoniasta	105,1	3,0	98,1	2,3	101,6	2,6	6,7	0,2	6,4	0,2	6,5	0,2
choroba Bergera	166,8	8,3	136,7	7,0	151,7	7,3	7,5	0,3	6,6	0,2	7,0	0,3
glomerulopatia mezangialna	95,2	7,2	87,2	5,2	91,2	6,1	8,7	0,9	8,4	0,9	8,6	0,9
postreptokokowe kłębuszkowe zn	227,7	73,5	93,0	9,7	160,3	38,5	7,3	1,5	4,5	0,2	5,9	0,7
zewnątrzwołniczkowe rozplemowe kzn	860,1	0,0	468,0	0,0	664,0	0,0	33,5	0,0	17,2	0,0	25,4	0,0
ogniskowe rozplemowe kzn	92,0	0,0	92,0	0,0	92,0	0,0	4,2	0,0	4,2	0,0	4,2	0,0
błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zn	219,7	50,4	84,6	1,6	152,1	24,9	9,1	1,6	5,0	0,3	7,0	0,8
plamica Shoenleina-Henocha	105,0	0,0	105,0	0,0	105,0	0,0	6,1	0,0	6,1	0,0	6,1	0,0
przewlekle kłębuszkowe zapalenie nerek	134,5	15,9	134,5	15,9	134,5	15,9	6,5	0,3	6,5	6,5	6,5	6,5
przypadki niesklasyfikowane	100,0	0,7	92,3	5,0	96,2	2,8	5,2	0,3	5,2	0,3	5,2	0,3

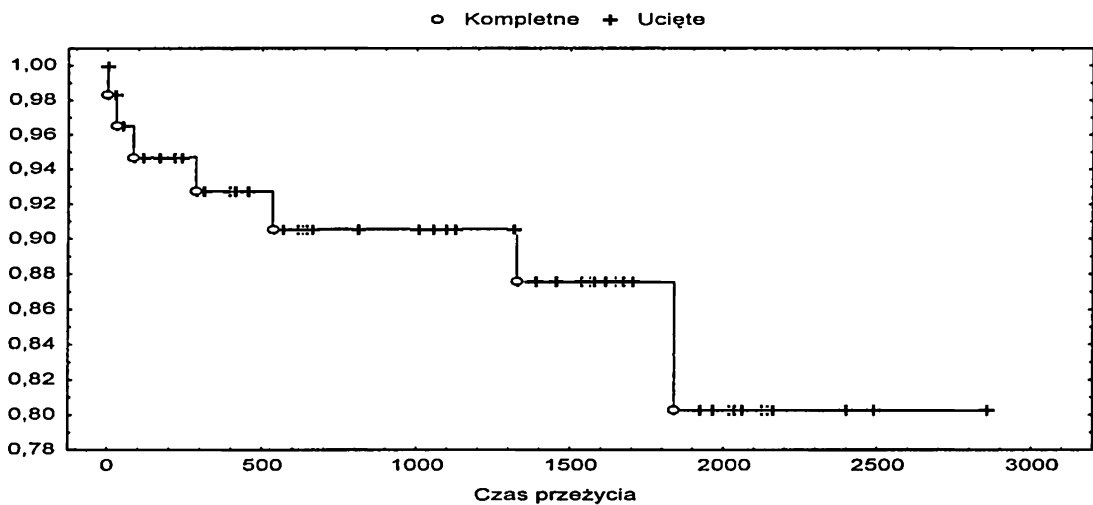
Tabela 13. Wartości białkomoczu dobowego w okresie wykonywania biopsji, wg typów glomerulopatii.

	poziom białkomoczu					
	najwyższy		najniższy		średni	
	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE
nefropatia minimalna	12,50	0,87	7,78	0,52	10,14	0,59
ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	9,80	1,39	7,10	1,49	8,45	1,42
nefropatia błoniasta	8,12	0,36	4,38	0,19	6,25	0,24
choroba Bergera	2,31	0,07	1,92	0,07	2,11	0,07
glomerulopatia mezangialna	5,97	0,64	2,76	0,22	4,37	0,35
postreptokokowe kłębuszkowe zn	1,17	0,54	1,17	0,54	1,17	0,54
ogniskowe rozplemowe kzn	0,70	0,00	0,70	0,00	0,68	0,00
błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zn	2,10	0,20	1,56	0,19	1,83	0,18
choroba gęstych złogów	14,00	0,00	14,00	0,00	14,00	0,00
plamica Shoenleina-Henocha	1,63	0,27	0,69	0,13	1,16	0,07
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	5,65	0,51	4,15	0,73	4,90	0,59
przypadki niesklasyfikowane	3,70	0,00	3,70	0,00	3,70	0,00

Tabela 14. Wartości ciśnienia tętniczego krwi w okresie wykonywania biopsji, wg typów glomerulopatii. S - skurczowe, D - rozkurczowe, SE - błąd standartowy

	najwyższa wartość						najniższa wartość						średnia z pomiarów					
	S		D		średnie		S		D		średnie		S		D		średnie	
	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE	śr.	SE
nefropatia minimalna	134,0	2,2	88,0	1,2	103,3	1,4	126,5	2,0	83,0	1,3	97,5	1,4	130,3	2,0	85,5	1,2	100,4	1,3
ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	162,5	5,5	100,0	4,1	120,8	4,3	147,5	5,9	87,5	2,4	107,5	3,6	155,0	5,2	93,8	2,4	114,2	3,1
nefropatia błoniasta	141,7	2,1	89,2	1,3	106,7	1,5	133,8	1,5	86,7	1,0	102,4	1,1	137,7	1,6	87,9	1,1	104,5	1,2
choroba Bergera	141,5	0,9	89,2	0,5	106,7	0,6	136,7	0,9	86,9	0,5	103,5	0,5	139,1	0,9	88,1	0,5	105,1	0,6
glomerulopatia mezangialna	154,3	6,2	97,1	4,6	116,2	5,0	137,1	3,2	87,1	1,1	103,8	1,7	145,7	4,3	92,1	2,8	110,0	3,2
postreptokokowe kłębuszkowe zn	156,7	5,1	90,0	3,3	112,2	3,6	133,3	10,7	80,0	3,3	97,8	5,7	145,0	7,6	85,0	2,9	105,0	4,2
ogniskowe rozplamowe kzn	110,0	0,0	60,0	0,0	76,7	0,0	110,0	0,0	60,0	0,0	76,7	0,0	110,0	0,0	60,0	0,0	76,7	0,0
błoniasto-rozplamowe kłębuszkowe zn	132,1	3,0	80,0	1,4	97,4	1,8	127,9	2,5	77,1	0,7	94,0	1,2	130,0	2,6	78,6	1,0	95,7	1,4
plamica Shoenleina-Henocha	120,0	0,0	80,0	0,0	93,3	0,0	120,0	0,0	80,0	0,0	93,3	0,0	120,0	0,0	80,0	0,0	93,3	0,0
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	160,0	8,8	100,0	8,8	120,0	8,8	160,0	8,8	100,0	8,8	120,0	8,8	160,0	8,8	100,0	8,8	120,0	8,8
przypadki niesklasyfikowane	126,7	3,9	80,0	0,0	95,6	1,3	126,7	3,9	80,0	0,0	95,6	1,3	126,7	3,9	80,0	0,0	95,6	1,3

W 66 przypadkach uzyskano dane o późniejszych losach chorych. Średni okres obserwacji wynosił 1064 dni. 7 pacjentów jest poddawanych dializom w sposób przewlekły.



Rycina 9. Czynność nerek w funkcji czasu. Wyniki analizy metodą Kaplan-Meyera.

Pozostałych 59 obecnie nie wymaga leczenia nerkozastępczego. Częstości poszczególnych typów nefropatii w grupie chorych dializowanych przedstawia tabela 15.

Tabela 15. Leczenie nerkozastępcze według rodzajów glomerulopatii

rozpoznanie	chorzy dializowani (chorzy nie poddawani dializom)
zewnątrzwłośniczkowe kłębuszkowe zapalenie nerek	1 (0)
choroba Bergera	2 (18)
bloniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek	1 (3)
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	2 (1)
niesklasyfikowane	1 (5)

11 Związki mierzonych parametrów z funkcją nerki w okresie wykonywania biopsji.

11.1 Parametry kliniczne czynności nerki a wyniki oceny półilościowej.

Odsetek kłębuszków całkowicie zwłókniałych wykazywał dodatnią, statystycznie istotną korelację z poziomem kreatyniny. Związek ten był najwyraźniej widoczny dla najniższego poziomu stwierdzanego w trakcie pobytu w szpitalu ($R=0,38$ $p=0,0004$). W teście Pearsona, ujawniającym zależność liniową korelacja była słaba i nieistotna statystycznie ($r=0,17$ $p=0,14$). Świadczy to o nieliniowym charakterze zależności. Natomiast związek z poziomem mocznika był słabszy ($R = 0,22$ $p=0,047$; $r=0,14$ $p=0,21$).

Oceniane półilościowo włóknienie mezangium pozostałych kłębuszków wykazuje istotną statystycznie dodatnią korelację z poziomem kreatyniny ($\gamma = 0,29$ $p = 0,004$); siła związku z poziomem mocznika w surowicy jest podobna ($\gamma = 0,28$ $p = 0,006$). Jako że obie te zależności są widoczne także w teście Pearsona (odpowiednio kreatynina $r=0,28$ $p=0,012$; mocznik $r=0,23$ $p=0,025$) zależność ma charakter liniowy. Stopień ocenianego półilościowo włóknienia podścieliska wykazuje obecność dodatniej korelacji z poziomem kreatyniny ($\gamma = 0,22$ $p= 0,027$). Nie stwierdza się związku tego parametru z poziomem mocznika ($\gamma = -0,07$ $p = 0,49$).

Obecność nacieków komórkowych w podścielisku wykazywała związek zarówno z poziomem mocznika ($\gamma = 0,24$ $p=0,015$) a zwłaszcza kreatyniny ($\gamma = 0,43$ $p = 0,00001$).

Obecność zaniku kanalików wykazywała dodatnią korelację z poziomem kreatyniny ($\gamma = 0,52$ $p < 0,000001$) oraz mocznika ($\gamma = 0,35$ $p=0,0003$).

11.2 Parametry kliniczne czynności nerki a wyniki pomiarów morfometrycznych.

Odsetek objętości kory nerki zajętej przez podścielisko wykazywał wysoce znamienne, dodatnią korelację z poziomem mocznika w surowicy pacjenta ($R=0,31$; $p=0,0056$) i nawet w większym stopniu z poziomem kreatyniny ($R=0,48$; $p=0,000003$). Zależności te widoczne były także przy ocenie korelacji metodą Pearsona (odpowiednio dla poziomu mocznika $r=0,29$ $p=0,008$ i dla poziomu kreatyniny $r=0,30$ $p=0,006$) co świadczy o ich liniowym charakterze. Zmienność ilości podścieliska wiązała się znamienne z poziomem kreatyniny ($R=0,39$ $p=0,0003$), ale mniejszym stopniu z poziomem mocznika ($R=0,23$ $p=0,04$). Zależności te nie były widoczne w teście Pearsona, co przemawia za ich nieliniowym charakterem.

Był także obecny dodatni związek pomiędzy naciekami podścieliskowymi, a poziomem kreatyniny, a w mniejszym stopniu mocznika (odpowiednio $R=0,29$ $p=0,007$ i $R=0,28$ $p=0,01$). Zależności te słabo zaznaczały się w teście Pearsona ($r=0,19$ $p=0,096$ i $r=0,19$ $p=0,092$). Zmienność nacieków podścieliskowych wykazywała związek z poziomem kreatyniny ($R=0,34$ $p=0,0013$) i słabszy związek z poziomem mocznika ($R=0,31$ $p=0,0055$). Korelacja liczona sposobem Pearsona jedynie pomiędzy zmiennością nacieków podścieliskowych a poziomem kreatyniny była słabo istotna statystycznie ($r=0,18$ $p=0,1$).

Wobec tego, że wiele mierzonych czynników zdawało się mieć związek z parametrami podścieliskowymi a poziomem kreatyniny oraz mocznika, a ponadto zmienne były powiązane ze sobą, postanowiono zbudować model regresyjny.

Wyniki przeprowadzonej analizy przedstawia tabela 16.

Tabela 16. Zmienne wpływające na poziom kreatyniny i mocznika w modelu wieloczynnikowym.

	poziom kreatyniny p=0,036		poziom mocznika p=0,027	
	odsetek objętości kory zajęty przez podścielisko	$\beta=0,37$	p=0,0066	$\beta=0,13$
zmienność objętości podścieliska	$\beta= -0,26$	p=0,038	$\beta=-0,22$	p=0,076
pole przekroju cytoplazmy kanalika bliższego	$\beta= -0,19$	p=0,06		
wiek pacjenta	$\beta=0,15$	p=0,08	$\beta=0,23$	p=0,009

Tak więc analiza wieloczynnikowa potwierdza, że najistotniejszym czynnikiem wpływającym na czynność nerki jest względna objętość podścieliska kory nerki. Wpływ nacieków podścieliskowych ocenianych zastosowaną metodą, zależy jedynie od współistniejącego zwiększenia objętości podścieliska.

Wpływ wieku pacjenta na parametry czynności nerki jest zjawiskiem znanym także w populacji ludzi zdrowych. Jednak jak wynika z analizy przedstawionej w tabeli 18, wiek w mniejszym stopniu wpływa na poziom kreatyniny, który jest uważany za użyteczniejszy parametr dla oceny czynności nerki niż poziom mocznika.

Umieszczenie w modelu regresyjnym także zmierzonych parametrów naczyniowych pokazało, że istotny wpływ na poziom mocznika i kreatyniny może mieć także grubość błony środkowej naczynia, jako że dla parametru IMT widoczne były istotne zależności (odpowiednio dla mocznika $\beta=0,32$ p=0,07 dla kreatyniny $\beta=0,32$ p=0,06). Co ciekawe, w takim rozszerzonym modelu regresyjnym nie występowała istotna zależność pomiędzy czynnością nerek a wiekiem pacjentów, co może świadczyć o tym, że wpływ ten zależy od związanych z wiekiem zmian w obrębie naczyń.

12 Związki mierzonych parametrów z białkomoczem.

Odsetek objętości kory nerki zajętej przez nacieki zapalne wykazywał dodatnie związki z poziomem białkomoczu ($r=0,22$ p=0,04; natomiast przy obliczeniu korelacji metodą Spearmana występowała jedynie nieistotna statystycznie tendencja od występowania zależności - przy $R=0,17$ p=0,11). Zmienność nacieków podścieliskowych także, w pewnym niewielkim stopniu wiązała się z poziomem białkomoczu ($R=0,19$ p=0,07). Podane, najsilniejsze zależności dotyczyły najniższych stwierdzanych podczas hospitalizacji wartości białkomoczu dobowego.

Spośród parametrów naczyniowych, istotne związki z białkomoczem wykazywały indeks szklwienia drobnych naczyń ($r= - 0,41$ p<0,001 chociaż $R= -0,18$ p=0,09). Liniowy pomiar grubości błony wewnętrznej tętnic wykazywał dodatnią, choć słabo istotną korelację z

białkomoczem ($r=0,21$ $p=0,078$); indeksy grubości błony wewnętrznej IIT i RIT takich związków nie wykazywały. Ujemny, słabo istotny związek z poziomem białkomoczu dobowego wykazywały indeks grubości błony środkowej RMT ($r= -0,20$ $p=0,09$) i IMT ($r= -0,22$ $p=0,076$), podczas gdy liniowy pomiar grubości błony środkowej takiego związku nie wykazywał.

Przy badaniu korelacji pomiędzy poziomem białkomoczu a parametrami podścieliskowo-kanalikowymi w wypadku poszczególnych glomerulopatii stwierdzono istnienie związków pomiędzy poziomem dobowego białkomoczu a polem przekroju nabłonka kanalika bliższego w wypadku niektórych jednostek chorobowych. Przedstawia to tabela 17. Jak można w niej zauważyć, związki te oscylują na granicy istotności statystycznej, a ich kierunki są różne w różnych glomerulopatiach.

Tabela 17. Korelacje pomiędzy poziomem dobowego białkomoczu a polem przekroju nabłonka kanalika bliższego w wypadku wybranych glomerulopatii.

ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	$r=0,86$	$p=0,06$
choroba Bergera	$r= -0,38$	$p=0,049$
glomerulopatia mezangialna	$r= -0,74$	$p=0,056$
przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek	$r=0,95$	$p=0,045$

Ponadto w glomerulopatii błonistej poziom białkomoczu wykazywał związek z objętością nacieków podścieliskowych ($r=0,69$ $p=0,003$), a w chorobie Bergera z objętością podścieliska nerki ($r=0,41$ $p=0,032$; $R=0,38$ $p=0,039$).

NB ciekawe relacje zachodziły pomiędzy wiekiem pacjentów a poziomem białkomoczu w przebiegu ogniskowego i segmentalnego szklwienia, nefropatii błonistej i choroby Bergera. Przedstawia je tabela 18.

Tabela 18. Związki pomiędzy wiekiem a poziomem białkomoczu w wybranych postaciach glomerulopatii.

ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków	$R= -0,90$	$p=0,038$
nefropatia błoniasta	$R= 0,46$	$p=0,069$
choroba Bergera	$r= 0,59$	$p=0,001$

Wyniki te, mimo że poziom istotności zbliżony jest do granicznego, a liczebność analizowanych grup niska, sugerują, że relacja pomiędzy wiekiem chorych a poziomem białkomoczu może być rozmaita w różnych jednostkach chorobowych.

13 Związki mierzonych parametrów z ciśnieniem tętniczym krwi.

Grubości błony wewnętrznej tętnic wykazywała słabą dodatnią korelację z poziomem ciśnienia tętniczego średniego ($R=0,21$ $p=0,06$; $r=0,23$ $p=0,058$) a nieco większym stopniu rozkurczowego ($R=0,25$ $p=0,04$, chociaż związek oceniany metodą Pearsona - $r=0,19$ - nie jest istotny statystycznie). Grubość liniowo mierzonej błony środkowej naczynia w pewnym stopniu wiązała się z zarówno z ciśnieniem skurczowym ($r=0,20$ $p=0,09$), rozkurczowym ($r=0,26$ $p=0,03$), jak średnim ($r=0,25$ $p=0,035$).

Korelacje indeksów grubości błony środkowej i wewnętrznej z wartościami ciśnienia tętniczego przedstawia tabela 19.

Tabela 19. Związki pomiędzy indeksami grubości błony wewnętrznej i środkowej tętnic, a wartościami ciśnienia tętniczego.

	skurczowe	rozkurczowe	średnie
RIT	$r=0,28$ $p=0,018$	$r=0,28$ $p=0,018$	$r=0,30$ $p=0,012$
IIT	$r=0,28$ $p=0,017$	$r=0,36$ $p=0,003$	$r=0,35$ $p=0,004$
IMT	$r=0,25$ $p=0,036$	$r=0,27$ $p=0,024$	$r=0,28$ $p=0,020$

RMT nie wykazywał istotnych statystycznie korelacji z ciśnieniem tętniczym.

Podział naczyń na kategorie według średnicy nie spowodował istotnej modyfikacji otrzymanych wyników. Jedynie zmniejszona liczebność poszczególnych kategorii zaowocowała utratą statystycznej istotności części zależności.

Zmiany szkliste w drobnych naczyniach w badanym materiale nie wykazywały istotnej statystycznie korelacji z ciśnieniem tętniczym.

Z ciśnieniem tętniczym krwi wiązały się natomiast parametry podścieliskowo-kanalikowe. Zarówno objętość podścieliska kory nerki jak jego zmienność istotnie wiązała się z ciśnieniem tętniczym. Związki te były silniej zaznaczone w odniesieniu do poziomu ciśnienia skurczowego (odpowiednio $r=0,28$ $p=0,016$ i $r=0,27$ $p=0,017$) niż średniego ($r=0,22$ $p=0,066$ i $r=0,24$ $p=0,04$) a zwłaszcza rozkurczowego ($r=0,13$ $p=0,25$ i $r=0,19$ $p=0,12$). Objętość nacieków podścieliskowych ani ich zmienność nie wykazywała korelacji z wartościami ciśnienia tętniczego.

Spośród zmierzonych parametrów kanalików związek z ciśnieniem tętniczym krwi wykazywały rozmiary kanalika bliższego. Ujemne, choć słabo istotne statystycznie korelacje występowały pomiędzy polem przekroju nabłonka kanalika bliższego a ciśnieniem skurczowym i średnim (odpowiednio $r= -0,21$ $p=0,072$; $r= -0,21$ $p<0,071$). Całkowite pole przekroju kanalika bliższego wykazywało ujemną, słabo istotną statystycznie korelację z ciśnieniem skurczowym,

rozkurczowym i średnim (odpowiednio $r = -0,21$ $p = 0,073$; $r = -0,21$ $p = 0,082$; $r = -0,22$ $p = 0,061$). Inne parametry takich związków nie wykazywały. Podział badanego materiału na kategorie według rozpoznanych rodzajów glomerulopatii nie ujawnił zależności odmiennych od stwierdzanych w całym zbiorze danych.

14 Wyniki badań klinicznych, parametry morfometryczne, a progresja do niewydolności nerek

Aby wstępnie zbadać, które czynniki związane były z niekorzystnym przebiegiem kłębuszkowych chorób nerek, porównano za pomocą testu U Mann-Whitneya wartości parametrów morfometrycznych, odsetek zwłókniałych kłębuszków, wyniki badań klinicznych oraz wiek pacjentów pomiędzy tymi, o których wiadomo, że poddawani są przewlekłym dializom, a tymi którzy dializ nie wymagali. Przypadki stracone z obserwacji zostały wyłączone z analizy. Spośród danych klinicznych, czynnikiem najsilniej różniącym obie badane grupy był poziom kreatyniny ($p = 0,0057$), a następnie ciśnienie skurczowe krwi ($p = 0,033$), poziom mocznika ($p = 0,049$), a w mniejszym stopniu średnie ciśnienie tętnicze ($p = 0,07$). Zależność pojawienia się niewydolności nerek od wieku pacjentów w chwili wykonania biopsji nie była istotna statystycznie ($p = 0,11$). Spośród parametrów morfologicznych największe różnice występowały w liniowo mierzonej grubości błony wewnętrznej naczyń ($p = 0,008$), odsetku objętości kory zajętej przez podścielisko ($p = 0,009$), oraz wskaźniku RIT grubości błony wewnętrznej ($p = 0,039$). Różnice we wskaźniku naczyniowym IIT i odsetku zwłókniałych kłębuszków były mało istotne (odpowiednio $p = 0,058$ i $p = 0,068$). Pozostałe badane zmienne nie wykazywały istotnych statystycznie różnic pomiędzy oboma grupami.

Tabela przedstawia wyniki analizy metodą proporcjonalnych hazardów wg Coxa. Stosunkowo niewielka była liczba obserwacji nie uciętych, a więc przypadków w których rozwinęła się niewydolność nerek, udokumentowana koniecznością stosowania przewlekłego leczenia nerkozastępczego. W związku z tym nie było możliwe badanie metodą Coxa jednocześnie wszystkich zmiennych. Dlatego podjęto próby budowy rozmaitych modeli regresyjnych. Najdoskonalszy z nich, o współczynniku istotności 0,00004 zawierał odsetek objętości kory nerki zajętej przez podścielisko, zmienność tego odsetka, zmienność odsetka objętości kory nerki zajętej przez nacieki zapalne, oraz najwyższy notowany poziom białkomoczu. Wyniki tej analizy przedstawia tabela 20.

Tabela 20. Wyniki analizy zmiennych wpływających na rozwój niewydolności nerek przeprowadzonej metodą Coxa.

$\chi^2 = 27,59$ $p = 0,00004$		
parametr	test Walda	p
odsetek objętości kory zajęty przez podścielisko	9,06	0,0026
zmienność nacieków podścieliskowych	6,46	0,011
zmienność objętości podścieliska	6,01	0,014
wiek	3,15	0,076
maksymalny poziom białkomoczu dobowego	2,91	0,089

Dyskusja

Podstawową metodą rozpoznawania i klasyfikacji kłębuszkowych chorób nerek jest biopsja gruboigłowa. Biopsja nerki jest zabiegiem inwazyjnym i mimo postępu w technice wykonywania biopsji nie jest całkowicie pozbawiona ryzyka. Jednak użycie do wykonywania biopsji urządzeń typu *'biopsy gun'* i igły cieńszej niż dawniej stosowane spowodowało, że wprawdzie powikłania w postaci pojawienia się krwiaka w miejscu wkłucia nie są rzadkie, ale niebezpieczne dla życia pacjenta krwawienie, zgon lub utrata nerki prawie się nie zdarza. Z drugiej strony zmiany techniki biopsji pozwalające na radykalne zmniejszenie ryzyka powikłań utrudnia pracę patomorfologa, powodując, że otrzymany materiał z zasady nie jest obfity, a biopsje nierzadko są niereprezentatywne. Dlatego, przy ocenie biopsji, istnieje potrzeba uzyskania z otrzymanego do badania materiału wszelkich użytecznych informacji.

Jak wspomniano we wstępie, w porównaniu z innymi chorobami nerek wiele glomerulopatii charakteryzuje się wysoką skłonnością do rozwoju przewlekłej niewydolności nerek. Równocześnie przebieg kliniczny kłębuszkowych zapaleń nerek jest w wielu wypadkach zmienny i trudny do przewidzenia. Ta różnorodność przebiegu widoczna jest nie tylko gdy rozpatruje się cechy różnych jednostek chorobowych, ale także w różnych przypadkach tej samej glomerulopatii. Stąd ważna z klinicznego punktu widzenia ocena prawdopodobnej ewolucji w indywidualnym przypadku na podstawie subiektywnej oceny preparatu mikroskopowego bywa zawodna. Nasuwa to konieczność poszukiwania czynników rokowniczych mogących pomóc w ocenie ryzyka rozwoju przewlekłej niewydolności nerek. Uzyskanie takich danych mogłoby być nieocenioną pomocą w wyborze strategii leczenia.

Odniesienie czynności nerek w kłębuszkowych zapaleniach nerek jedynie do parametrów kłębuszkowych daje mało wiarygodne wyniki. Gdy ocena rokowania bazuje jedynie na zmianach widocznych w kłębuszkach nerkowych, często nie docenia się ryzyka rozwoju przewlekłej niewydolności nerek. W rutynowym materiale z jednej strony często nie stwierdza się obecności zwłókniałych kłębuszków mimo tego, że klinicznie widoczne są cechy rozpoczynającej się niewydolności. Z drugiej strony, widuje się nawet zaawansowane zmiany kłębuszkowe niekoniecznie wiążące się z pogorszeniem czynności nerki, gdy nie współwystępuje włóknienie podścieliska. Fakty te mimo, że w świetle opublikowanej literatury nie są niczym zaskakującym, w codziennej praktyce nefropatologicznej bywają pomijane.

Już w 1968 roku Risdon, Sloper i Wardener badali związek pomiędzy parametrami morfologicznymi widocznymi w preparatach histologicznych biopsji nerki, a parametrami czynnościowymi w przebiegu długotrwałych kłębuszkowych zapaleń nerek. Autorzy ci stwierdzili, że istnieje znacznie silniejszy związek pomiędzy poziomem wydolności nerki, a

zanikiem kanalików i włóknieniem podścieliska, niż pomiędzy poziomem wydolności nerki, a zmianami kłębuszkowymi [145]. Było to pierwsza praca tak dobitnie przedstawiająca zależność pomiędzy czynnością nerki a zmianami pozakłębuszkowymi w przebiegu chorób kłębuszkowych, chociaż podobne obserwacje pojawiały się wcześniej. Od połowy lat siedemdziesiątych Bohle wraz ze współpracownikami wykazywał istnienie korelacji włóknienia podścieliska nerki z jej czynnością w większości pierwotnych chorób kłębuszkowych [16, 17, 18, 19, 106]. Pogląd o decydującej ważności zmian pozakłębuszkowych dla rokowania w chorobach nerek jednak dopiero po dłuższym czasie uzyskał powszechną akceptację.

Wśród parametrów ilościowych mierzonych w nerkach kluczowe miejsce zajmuje odsetek objętości kory zajętej przez podścielisko. Jest to zmienna która w wielu pracach, w tym także w niniejszym opracowaniu, najsilniej wiąże się zarówno z funkcją nerki w chwili wykonania biopsji, jak też z ryzykiem rozwoju przewlekłej niewydolności nerek. Zmianami które towarzyszą włóknieniu podścieliska i w części opracowań także posiadają pewne znaczenie prognostyczne są: ilość komórek nacieku zapalnego w podścielisku oraz zanik kanalików.

Temat pomiaru objętości kłębuszków i potencjalnego zastosowania jej zwiększenia jako kryterium diagnostycznego omawiany był powyżej. Jak wspomniano objętość kłębuszków rośnie w przebiegu niektórych glomerulopatii, szczególnie ogniskowego i segmentalnego stwardnienia i stąd parametr ten może w pewien sposób oddziaływać na rokowanie. Inne zmiany w kłębuszkach są uważane za mniej ważne w rokowaniu kłębuszkowych zapaleń nerek. Jednak pojawiają się opinie, że wzrost ilości substancji pozakomórkowej w kłębuszku może być także ważnym czynnikiem prognostycznym. Danilewicz i współpracownicy [35] stwierdzili istotny wzrost ilości paS-dodatniej substancji w kłębuszkach chorych z chorobą Bergera, mezangialno-rozplemowym i mezangialno-włośniczkowym kłębuszkowym zapaleniem nerek. Wzrost ten nie zależał od rodzaju pierwotnego procesu kłębuszkowego. Tendencja do wzrostu parametrów niewydolności nerek w miarę wzrostu ilości substancji pozakomórkowej nie osiągnęła jednak poziomu istotnego statystycznie. Także Danilewicz i Wągrowaska-Danilewicz badali grubość błony podstawnej kłębuszków nerkowych w przebiegu glomerulopatii minimalnej. Stwierdzili jej pewne zmniejszenie w stosunku do grupy kontrolnej, chociaż różnica nie osiągnęła istotności statystycznej [43]. W opinii Sinniaha i Khana także zwiększona grubość błon podstawnych kanalików mierzona na poziomie mikroskopu elektronowego wiąże się z upośledzeniem czynności nerki [176].

Wywołane procesami toczącymi się w podścielisku zjawiska powodujące pojawienie się niewydolności nerek to: zmniejszenie przepływu krwi spowodowane mechanicznym uciskiem, wzrost oporu naczyniowego, zniesienie autoregulacji i równowagi kłębuszkowo - kanalikowej.

W modelu kłębuszkowego zapalenia nerek Heymanna stwierdza się osłabienie autoregulacji (model podostry) lub jej utratę (model przewlekły). Przyczyną tych zjawisk mogą być zmiany w funkcjonowaniu lokalnego układu renina - angiotenzyna, albo oddziaływanie metabolitów kwasu arachidonowego [27]. Zmiany występujące w podścielisku prowadzą też do zaburzeń jego osmolarności i co za tym idzie upośledzenia reabsorpcji wody i sodu. Znaczenie w rozwoju niewydolności nerek może mieć także pojawienie się bezkanalikowych kłębuszków. W ich obrębie, mimo utrzymanego przepływu krwi, nie dochodzi do filtracji [18, 19, 122, 178]. Howie twierdzi, że o rozwoju przewlekłej niewydolności nerek w kłębuszkowych zapaleniach decydują nie tyle zmiany podścieliskowe, ale towarzyszące im uszkodzenie kanalików, szczególnie proksymalnych. Według tego autora, uszkodzenie komórek nabłonka kanalikowego, wyrażające się zmniejszeniem pola przekroju wykazuje statystycznie istotny związek z objętością podścieliska [66]. Także we własnym materiale stwierdziłem podobną zależność ($R = -0,41$ $p < 0,000001$).

W przebiegu postępujących kłębuszkowych chorób nerek niewątpliwie występującymi zjawiskami są uszkodzenie i utrata kapilar okołokanalikowych chociaż patomechanizm i znaczenie tego procesu nie są całkowicie wyjaśnione. Zmniejszenie przekroju kapilar może powodować upośledzenie przepływu krwi przez kłębuszki. Utratę kapilar okołokanalikowych w przebiegu glomerulopatii, wyrażającą się zmniejszeniem łącznego pola przekroju włóscinek, stwierdził Mackensen-Haen i współpracownicy. Autorzy ci uważają zmiany w kapilarach okołokanalikowych za istotny czynnik w powstawaniu przewlekłej niewydolności nerek [103]. Także Seron i współpracownicy stwierdzili znaczący spadek liczby kapilar okołokanalikowych w przebiegu rozmaitych glomerulopatii. Spadek ten wykazywał znaczącą korelację z upośledzeniem czynności nerki. Wiązał się także ze stopniem włóknienia podścieliska, zaniku kanalików i intensywności nacieków zapalnych [174]. Ohashi i współpracownicy do oceny zmian w obrębie kapilar okołokanalikowych posłużyli się modelem zapalenia nerek typu Masugi. W swoim materiale stwierdzili wysoce znamienne spadek kapilar okołokanalikowych. Spadek ten wykazywał związek z włóknieniem podścieliska oraz z upośledzeniem czynności nerki. Autorzy pracy upatrywali przyczyny uszkodzenia włóscinek w pojawieniu się w podścielisku nacieków limfohistiocytarnych [127].

1 Podścielisko

Wśród najczęściej mierzonych w nerkach parametrów ilościowych kluczowe miejsce zajmuje odsetek objętości zajętej przez podścielisko. Ocena może być utrudniona ze względu na złożoność geometryczną i przy konieczności oddzielenia w obrazie komputerowym podścieliska od pozostałych składników miąższu nerki. Najprostszym sposobem pomiaru objętości

podścieliska jest ocena półilościowa, bazująca na oglądaniu materiału w mikroskopie optycznym. Wykonany w taki sposób 'pomiar' trudno jednak uznać za obiektywny, zwłaszcza w niewielkim wycinku tkankowym, jaki siłą rzeczy stanowi bioptat. Jednak w pionierskiej pracy Risdona i współpracowników zastosowanie podobnej metodyki umożliwiło stwierdzenie, że zmiany podścieliskowo-kanalikowe są wysoce istotne dla funkcjonowania nerki. Autorzy tej pracy oceniali liczbę pól widzenia w obrębie wycinka w których występował zanik kanalików połączony z włóknieniem podścieliska. Dla zwiększenia obiektywizmu ocenę przeprowadzało dwu badaczy niezależnie od siebie [145]. Najczęściej stosowaną metodą pomiaru względnej objętości śródmiaższu nerki jest rzutowanie na oceniany obraz siatki składającej się ze znanej liczby punktów i liczenie odsetka punktów które znajdują się w obrębie badanej struktury, w tym wypadku podścieliska. Zaletą metody liczenia punktów (*point counting*) jest zadowalająca szybkość i dokładność, przy znikomej złożoności obliczeniowej i łatwości realizacji. Cenną właściwością tej metody jest fakt, iż stanowi estymator nieobciążony, a więc daje rzetelną ocenę frakcji objętości. Wadami są - konieczność udziału operatora i związana z tym pracochłonność. Zastosowanie systemu komputerowego przetwarzania obrazu, jak w niniejszej pracy, pozwala na pewne ułatwienie pracy i eliminację pomyłek. Ujemną stroną metody liczenia punktów jest ograniczona wrażliwość na ogniskowe zwiększenie objętości podścieliska. Zachariae i współpracownicy proponują dla wyeliminowania tego problemu równoległe stosowanie oceny półilościowej [208]. W niniejszej pracy dla oceny zmienności wzrostu ilości podścieliska obliczono wariancję objętości śródmiaższu pomiędzy poszczególnymi polami widzenia.

Dla zapewnienia wystarczającej dokładności stosuje się barwienia pozwalające na łatwe określenie granic struktur takich jak kanaliki, kłębuszki i naczynia pozakłębuszkowe. Takim sposobem barwienia jest metoda PAMS stosowana niniejszej pracy, doskonale uwidoczniająca zarysy błon podstawnych kanalików oraz torebki ciałek nerkowych. W pomiarach podścieliska można zaliczać obszar błon podstawnych kanalików zarówno do podścieliska, jak i do kanalików; naturalnie wpływa to nieco na wyniki oceny. Za zaliczeniem błon podstawnych do obszaru podścieliska przemawia opinia Kappel i Olsena [79], że jest to łatwiejsze i pozwala na uzyskanie większej powtarzalności. Ponadto poszerzenie obszaru błon podstawnych wiąże się patogenetycznie ze zmianami podścieliskowymi, oraz z czynnością nerki [176].

W związku z niedogodnościami związanymi z metodą liczenia punktów pojawiają się prace, które sugerują zastosowanie nowych metod: innych niż rutynowe barwień oraz zaawansowanej komputerowej analizy obrazu. Hraby i współpracownicy do pomiaru objętości podścieliska posłużyli się segmentacją opartą na ocenie histogramu poziomów szarości [69]. Young i współpracownicy zastosowali progowanie na podstawie barwy [207]. Moreso i współpracownicy

wprowadzili segmentację z użyciem parametrów tekstury, klasyfikowanych przy pomocy sieci neuronowej. W cytowanej pracy preparaty barwione były czerwienią Syriusza, a obraz rejestrowany w świetle spolaryzowanym. Założeniem autorów było stworzenie metody w pełni automatycznej a równocześnie dokładnej, jednak pomiary tego typu wymagały dużych mocy obliczeniowych. Ten sam zespół w tym samym roku opublikował artykuł o zmianach objętości podścieliska w nerkach chorych z zespołem nerczycowym leczonym cyklosporyną, z zastosowaniem klasycznej metody liczenia punktów [115, 142, 175]. Także Masseroli i współpracownicy przedstawili metodę całkowicie automatycznej segmentacji i klasyfikacji obrazu nerki, z preparatem barwionym czerwienią Syriusza [111]. Podsumowując, wydaje się, że zastosowanie podobnych do przedstawionych metod automatycznej oceny objętości podścieliska nerki jest potencjalnie bardzo obiecujące.

Wzrost objętości podścieliska, a także zanik kanalików jest stałym zjawiskiem podczas ewolucji chorób kłębuszkowych. Czynniki te wykazują istotne statystycznie korelacje z biochemicznymi wskaźnikami czynności nerek. Wiążą się także ze stopniem ryzyka rozwoju przewlekłej niewydolności nerek. Dlatego parametry te mogą istotnie pomóc w ustaleniu rokowania. Istnienie wysoce znamiennego związku pomiędzy zmianami podścieliskowymi a poziomem kreatyniny potwierdzono między innymi w nefropatii IgA, postreptokokowym kłębuszkowym zapaleniu nerek, mezangialno-rozplemowym kłębuszkowym zapaleniu nerek, błoniasto-rozplemowym kłębuszkowym zapaleniu nerek, ogniskowym i segmentalnym stwardnieniu kłębuszków, nefropatii błoniastej i innych chorobach [15, 16, 17, 18, 19, 32, 36, 39, 40, 55, 66, 75, 103, 104, 106, 160, 165, 178, 193]. Procesy toczące się w obrębie podścieliska są tak istotne, że dla niektórych autorów kłębuszkowe zapalenie nerek staje się wręcz "*dziwacznym procesem śródmiąższowym*" [122]. W wielu publikacjach wzrost objętości śródmiąższu kory nerki jest najważniejszym lub wręcz jedynym parametrem morfologicznym o znaczeniu rokowniczym. Pomimo faktu, że w przebiegu kłębuszkowych chorób nerek proces pierwotnie obejmuje kłębuszki nerkowe, w licznych publikacjach zmiany podścieliskowe nie wykazują jednoznacznego i znamiennego statystycznie związku z zaawansowaniem zmian w obrębie kłębuszka. I tak na przykład w ogniskowym i segmentalnym stwardnieniu kłębuszków nie dopatrył się istnienia takiego związku Bohle [17]. Według Mackensen-Haena zmiany w podścielisku nerki w przebiegu glomerulopatii błoniasto-rozplemowej nie wykazują związku z zaawansowaniem zmian w kłębuszkach. W materiale tego autora nawet najbardziej zaawansowane zmiany w kłębuszkach nie wiążą się z upośledzeniem czynności nerki jeżeli nie towarzyszą im wzrost objętości i włóknienie śródmiąższu [106]. Danilewicz stwierdził istnienie jedynie słabych i nieistotnych statystycznie korelacji pomiędzy zaawansowaniem zmian

kłębuszkowych a objętością podścieliska w przebiegu glomerulopatii błoniastej [36]. Woźniak i współpracownicy nie stwierdzili istnienia istotnych związków pomiędzy wczesnym szklwieniem kłębuszków a zmianami podścieliskowymi [200]. Według Bazziego, w odróżnieniu od objętości śródmiąszu nerki, odsetek całkowicie zwłókniałych kłębuszków nie wykazuje też związku z charakterem białkomoczu. Według Robertsa w przebiegu glomerulopatii błoniastej ani odsetek zwłókniałych kłębuszków ani zaawansowanie zmian kłębuszkowych nie wykazują związku z czynnością nerki, ani z rokowaniem. Natomiast objętość podścieliska i liczba miofibroblastów w nim obecnych istotnie wiązały się z funkcją nerki [153]. Z drugiej strony zmiany poza- i wewnątrz-kłębuszkowe mogą mieć w różnych nefropatiach rozmaite i uzupełniające się znaczenie dla oceny ryzyka progresji do niewydolności nerek. Katafuchi i współpracownicy sugerują, że w glomerulopatiach rozplemowych znaczenie prognostyczne mają zarówno powiększenie ilości podścieliska, jak i stopień sklerotyzacji kłębuszków. W mezangialno-rozplemowym kłębuszkowym zapaleniu nerek autor ten stwierdził istnienie istotnych statystycznie związków pomiędzy zmianami podścieliskowymi a kłębuszkowymi. Autor ten sądzi, że istotność zmian w kłębuszkach dla czynności nerki jest charakterystyczna dla chorób przebiegających z wyraźnym rozplemem komórek mezangium [83]. W chorobie Bergera, Polenakovic i współpracownicy postulowali skuteczność prognostyczną zarówno oceny zmian kłębuszkowych jak też podścieliskowych [141]. W przebiegu szybko postępującego kłębuszkowego zapalenia nerek czynnikami wiążącymi się w istotny sposób z ryzykiem rozwoju przewlekłej niewydolności nerek są zarówno zmiany kłębuszkowe (duża ilość półksiężyców, stopień sklerotyzacji), jak pozakłębuszkowe (rozlane uszkodzenie kanalików i włóknienie podścieliska) [160]. Związku pomiędzy stopniem włóknienia kłębuszków a objętością podścieliska nerki w przebiegu nefropatii IgA nie stwierdzili u dzieci Berg i współpracownicy [15]. Widstam-Attorps i współpracownicy stwierdzili związek rozwoju niewydolności nerek zarówno ze sklerotyzacją w kłębuszku jak ze zmianami śródmiąszowymi. Wzrost objętości podścieliska wiązał się natomiast z występowaniem śródmiąszowych nacieków zapalnych. W pracy tej zmiany śródmiąszowe należały do tych składników obrazu histologicznego które w największym stopniu pozwalały na ocenę rokowania. Autorzy stwierdzili, że zmiany mezangialne i śródmiąszowe były od siebie niezależne. Ze spadkiem funkcji nerek wiązały się także zmiany w naczyniach. W tej publikacji zmiany naczyniowe także nie wykazywały istotnego związku ze zmianami w obrębie mezangium [195].

Stopień włóknienia podścieliska związany z wiekiem także nie wykazuje związku z odsetkiem zwłókniałych kłębuszków [9, 11, 15, 76, 107, 135, 193]. Wydaje się, że także w przebiegu

fizjologicznego starzenia nerki włóknienie podścieliska postępuje niezależnie od zmian w obrębie kłębuszków [48].

Przewlekła niewydolność nerek ma nie występować w takich przypadkach w których zmianom w obrębie kłębuszków nie towarzyszą wtórne zjawiska w obrębie śródmiąższu i kanalików. Typowym przykładem takiej sytuacji jest glomerulopatia minimalna [19]. W przebiegu tej jednostki chorobowej stwierdza się bardzo wysokie wartości białkomoczu. Równocześnie nie następuje progresja do przewlekłej niewydolności nerek a rokowanie odległe jest bardzo dobre. W obrazie morfologicznym nie stwierdza się obecności nacieków komórkowych w podścielisku, brak jest też cech wzrostu objętości śródmiąższu nerki. Danilewicz i współpracownicy nie stwierdzili w glomerulopatii minimalnej zwiększenia ilości miofibroblastów w podścielisku nerki [47]. Z drugiej strony Furness oznaczał immunohistochemicznie makrofagi w korze nerek w przebiegu glomerulopatii minimalnej. Posługując się komputerową analizą obrazu stwierdził istotny wzrost częstości występowania komórek histiocytarnych w badanych przypadkach [58]. Według Hrubego i współpracowników w przebiegu tej glomerulopatii stwierdza się relatywnie najmniej nasilone cechy uszkodzenia kanalików bliższych [69]. W świetle tego, co wiadomo o roli białkomoczu w rozwoju niewydolności nerek dobre rokowanie w glomerulopatii minimalnej, oraz brak zmian pozakłębuszkowych mogą wydawać się niezwykle. Uważa się, że przyczyną tego stanu rzeczy może być wysoka selektywność białkomoczu występującego w przebiegu glomerulopatii minimalnej. Rzeczywiście, wysoka selektywność białkomoczu w przebiegu zespołu nerczykowego wiąże się z korzystnym rokowaniem co do czynności nerek także w przebiegu innych glomerulopatii. Stopień selektywności białkomoczu może nawet pomóc w klasyfikowaniu pacjentów na grupy charakteryzujące się dobrą lub złą odpowiedzią na leczenie sterydami. Inną przyczyną powodującą dobre rokowanie w przebiegu *minimal change disease* może być fakt, że leczenie sterydami kory nadnerczy z reguły powoduje ustąpienie białkomoczu co ogranicza możliwość uszkodzenia kanalików i podścieliska. W odróżnieniu od tego w przewlekłych, postępujących glomerulopatiach występujący białkomocz jest zwykle nieselektywny i mimo stosowanego leczenia może się utrzymywać przez długi czas [11, 50, 130, 144, 178]. Argumentem przemawiającym przeciwko tłumaczeniu korzystnego rokowania w glomerulopatii minimalnej dobrą odpowiedzią na leczenie są publikacje pokazujące, że zmiany w podścielisku nerki w przebiegu kłębuszkowego zapalenia nerek obecne są już w krótkim czasie od pojawienia się objawów [69].

Także w obecnym materiale stwierdziłem, że w glomerulopatii minimalnej objętość podścieliska nerki nie odbiega od wartości widywanych w grupie kontrolnej. Objętość podścieliska kory nerki jest w tych przypadkach zbliżona do wartości oczekiwanej obliczonej na

podstawie wieku chorego. Wyniki zbliżone do otrzymanych w niniejszej pracy publikuje Danilewicz [40]. Autor ten stwierdził jedynie niewielki, nieistotny statystycznie wzrost frakcji objętości podścieliska nerki w przebiegu glomerulopatii minimalnej. W swojej publikacji Danilewicz oparł się także na materiale chorych dorosłych, a więc podobnym jak w niniejszym opracowaniu.

Odmienne od przytoczonych wyniki pomiarów podścieliska w glomerulopatii minimalnej przytaczają w dwu wczesnych pracach Jepsen i Mortensen oraz Bohle i współpracownicy. Jepsen i Mortensen porównywali przypadki glomerulopatii minimalnej z materiałem pochodzącym z sekcji lub z nerek przeznaczonych do przeszczepu i stwierdzili znaczący wzrost objętości podścieliska. Wzrost ten był szczególnie wyraźny w wypadkach w których klinicznie stwierdzano białkomocz bez innych cech zespołu nerczycowego. Wyniki te wydają się zaskakujące, ale możliwe jest, że wyjaśnienie leży w doborze materiału. W pracy Jepsena i Mortensena badanie mikroskopowo-elektronowe przeprowadzono jedynie w 1/3 przypadków. Także przyjęte kryterium reprezentatywności biopsji było bardzo liberalne, ponieważ za wystarczającą do postawienia rozpoznania uznano obecność 3 kłębuszków. Dlatego można przypuścić, że grupa doświadczalna była niejednorodna i mogła obejmować przypadki glomerulopatii innych niż minimalna, przede wszystkim ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków. Możliwość takiej interpretacji dopuszczają zresztą sami autorzy [57, 75]. Praca Bohle'a i współpracowników operuje bardziej reprezentatywnym materiałem. Autorzy nie określają natomiast stosowanych kryteriów diagnostycznych glomerulopatii minimalnej, ani kryteriów na podstawie których dokonali selekcji materiału [17]. Wydaje się, że niezgodność występująca pomiędzy cytowanymi wynikami badań glomerulopatii minimalnej przeprowadzonymi w latach siedemdziesiątych a publikowanymi w późniejszych latach, a także uzyskanymi w niniejszej pracy mogą wynikać z odmiennego definiowania tej jednostki chorobowej.

Hruby ze współpracownikami badał przypadki kłębuszkowych zapaleń nerek we wczesnej fazie przebiegu klinicznego, a więc u chorych u których biopsję przeprowadzono mniej niż 2 miesiące od początków objawów. Na materiale tym wykazał istnienie istotnego statystycznie związku pomiędzy zwiększeniem ilości podścieliska oraz zanikiem kanalików a funkcją nerki ocenianą po upływie 6 i 24 miesięcy od postawienia rozpoznania [69]. Wrzołkowa stwierdziła, że wzrost objętości śródmiaższu nerki jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek u dzieci, szczególnie w błoniasto-rozplemowym zapaleniu nerek [202].

Cechy morfologiczne które mogą stanowić przesłanki decydujące o rokowaniu w nefropatii błoniastej badali Lee i Koh [98]. Zidentyfikowane przez tych autorów zmiany morfologiczne mające niekorzystne znaczenie prognostyczne to wzrost objętości podścieliska nerki, wzrost ilości macierzy mezangium, stopień pogrubienia błon podstawnych kapilar kłębuszka i pojawienie się stwardnienia tętniczek. Spośród zmian w obrębie kłębuszków szczególnie istotne rokowniczo miało być występowanie zmian o typie wtórnego ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków. Toth i Takebayashi [184] badali rolę wielkości elektronowogęstych złogów oraz grubość błony podstawnej w odniesieniu do parametrów wydolności nerek w glomerulopatii błoniastej. Stwierdzili, że oba te parametry wykazują wyraźną, dodatnią korelację z poziomem białkomoczu. Zmiany w błonach podstawnych kapilar mają się także wiązać z podwyższeniem poziomu kreatyniny w surowicy krwi, oraz z obniżoną wartością klirensu kreatyniny. Autorzy wiązali otrzymane wyniki z zaburzeniem czynności bariery filtracyjnej kłębuszków. Nie oceniali natomiast zmian we śródmiaższu nerki.

Glomerulopatią w której parametry ilościowe biopsji nerki budzą szczególne zainteresowanie jest choroba Bergera. Wynika to z częstości tej postaci nefropatii, jej przewlekłości oraz niejednolitego, trudnego do przewidzenia przebiegu. Częstość choroby Bergera dochodzi nawet do 1/2 wszystkich glomerulopatii, natomiast częstość rozwoju przewlekłej niewydolności nerek wynosi według różnych źródeł od 5 do 40% [55, 166, 169, 183]. W celu uzyskania wiarygodnych danych co do ryzyka rozwoju przewlekłej niewydolności nerek, w nefropatii IgA próbuje się stosować indeksy półilościowe [168, 169, 195, 166]. Takie podejście może owocować brakiem spodziewanej powtarzalności i dokładności oceny.

Jednak mimo powyższych zastrzeżeń liczne są publikacje posługujące się metodami półilościowymi. Alamartine i współpracownicy oceniali zmiany w nerkach chorych na nefropatię IgA, badając biopsje wykonywane dwukrotnie, w odstępie 5 lat. Oceniali takie zmiany jak włóknienie, obrzęk podścieliska, nacieki podścieliskowe. Zsumowanie punktowej oceny poszczególnych cech dawało indeksy zmian kłębuszkowych oraz zmian pozakłębuszkowych. Autorzy stwierdzili, że rozwój niewydolności nerek istotnie wiąże się z progresją tak zbudowanych wskaźników, zwłaszcza z indeksem zmian pozakłębuszkowych. Badając prognostyczną wartość innych parametrów stwierdzili, że wysoka wartość opracowanego przez nich indeksu zmian histologicznych, wysoki poziom białkomoczu, obecność nadciśnienia oraz antygeny zgodności tkankowej HLA B35 wiążą się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju przewlekłej niewydolności nerek. Rozległość zmian mezangialnych, które uważane są za najbardziej charakterystyczne dla nefropatii IgA, nie wykazywała w materiale Alamartine'a i współpracowników istotnych zmian w okresie obserwacji. Natomiast najszybszą ewolucję

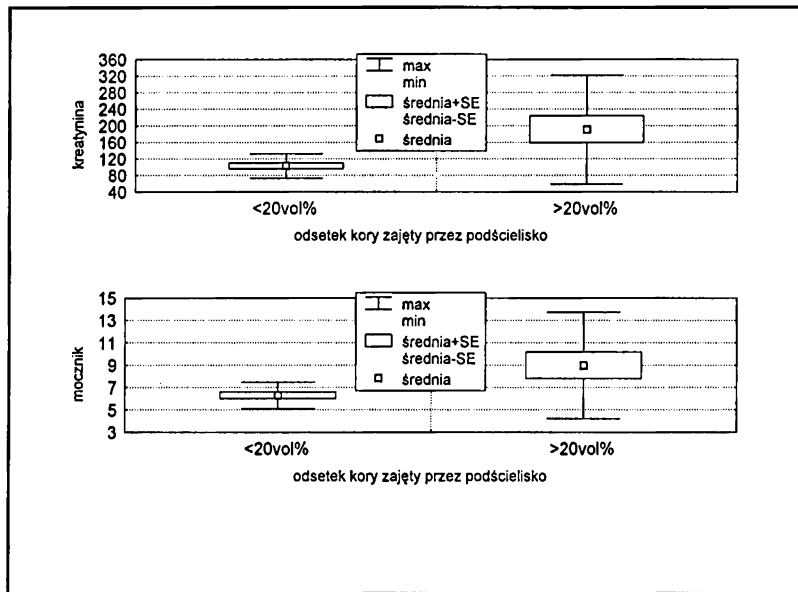
zaobserwowano w przypadku zmian w obrębie naczyń pozakłębuszkowych. Autorzy cytowanej pracy sugerują, że zmiany pozakłębuszkowe, a w szczególności zmiany w naczyniach pozakłębuszkowych, mają być najistotniejszym czynnikiem progresji w nefropatii IgA. Spośród cechy klinicznych najważniejsze ma być natomiast nadciśnienie tętnicze [3]. Shigematsu zaproponował zastosowanie analogicznie skonstruowanych indeksów do oceny zmian w przebiegu zewnątrzłóśniczego kłębuszkowego zapalenia nerek [170]. Roszkowska-Blaim zastosowała podobną metodykę właśnie do szybko postępującego kłębuszkowego zapalenia nerek. Autorka ta uważa, że może to ułatwić zaplanowanie leczenia a także pomóc w określeniu rokowania [152].

Przeprowadzona w obecnej pracy analiza wyników przyniosła potwierdzenie powyższych stwierdzeń. Frakcja objętości kory nerki zajęta przez podścielisko była, spośród wszystkich badanych parametrów morfometrycznych, najsilniej związana z biochemicznymi parametrami czynności nerki. Należała ona także do zmiennych których wartości najbardziej różniły się pomiędzy grupą chorych u których konieczne okazało się rozpoczęcie stosowania przewlekłych dializ, a przypadkami w których takie postępowanie nie było potrzebne. Tak więc był to wysoce skuteczny wskaźnik ryzyka rozwoju przewlekłej niewydolności nerek.

W literaturze wyrażono pogląd, że wzrost objętości śródmiaższu aż do 20% objętości może nie dawać zwiększenia poziomu kreatyniny. Można wiązać takie wyniki z istnieniem rezerwy czynnościowej nerki, która jak wiadomo pozwala na utrzymanie homeostazy przy zniszczeniu nawet 2/3 utkania nerek. Bardziej subtelne wskaźniki wydolności nerek, takie jak wartość klirensu kreatyniny, mają wykazywać korelację z przyrostem objętości i włóknieniem podścieliska także wtedy, gdy wzrost objętości podścieliska jest niewielki i nie przekracza wspomnianej wartości granicznej. Mackensen-Haen i współpracownicy stwierdzili, że w przebiegu błoniasto-rozplemowego kłębuszkowego zapalenia nerek nawet niewielki wzrost objętości podścieliska wiąże się z proporcjonalnym obniżeniem wartości klirensu kreatyniny i filtracji kłębuszkowej [106].

Na materiale własnym stwierdziłem, że rzeczywiście, grupa przypadków o objętości podścieliska mniejszej niż podany próg charakteryzuje się istotnie niższymi od pozostałych wartościami kreatyniny i w mniejszym stopniu także mocznika w surowicy (w teście U Mann-Whitneya dla kreatyniny $p=0,00038$ a dla mocznika 0,085). Różnice pomiędzy oboma grupami przedstawia rycina 10.

Aby stwierdzić, czy przyjęcie progu objętości podścieliska nerki na poziomie 20% pozwala na odróżnienie przypadków istotnie różniących się czynnością nerki, przeprowadziłem tabelaryzację danych. Ujawniła ona, że aż w 9 przypadkach spośród 23 w których poziom kreatyniny



Rycina 10. Poziom kreatyniny i mocznika w przypadku względnej objętości podścieliska nerki poniżej i powyżej 20%.

przekraczał 115 $\mu\text{mol/l}$ podścielisko stanowiło mniej niż 20% objętości kory nerki. Gdy rozpatrywałem poziom mocznika przekraczający 6,5 mmol/l odsetek przypadków o objętości podścieliska poniżej 20% był jeszcze wyższy i osiągał 16 z 28 przypadków. W związku z tym można wysnuć wniosek, że przynajmniej w odniesieniu do badanego materiału granica objętości podścieliska 20% nie pozwala na odróżnienie przypadków w których występują cechy niewydolności nerek.

Gdy podobną tabelaryzację przypadków przeprowadziłem, posługując się progiem objętości podścieliska na poziomie 10% okazało się, że wyraźnie spadła liczba przypadków w których występowały cechy biochemiczne upośledzenia czynności nerki a objętość podścieliska była niższa od zadanego progu. W tylko jednym wypadku poziom kreatyniny przekraczał normę; w czterech przekroczone były poziomy mocznika. Tak więc można uważać, że odsetek objętości podścieliska wiążący się z podwyższeniem wartości wskaźników wydolności nerek to raczej 10 niż 20%. Względna objętość podścieliska kory zdrowej nerki jest oceniana na około 8% [68]. W związku z tym otrzymane przeze mnie wyniki sugerują, że nawet niewielki wzrost objętości śródmiąższu może wiązać się z upośledzeniem czynności narządu. Wyniki niniejszej pracy są więc podobne do otrzymanych przez Mackensen-Haena.

W przebiegu przewlekłych chorób nerek elementem składowym śródmiąższu kluczowym dla produkcji substancji podstawowej tkanki łącznej jest miofibroblast. W przebiegu nefropatii IgA Ando i współpracownicy wykazali, że obecność w podścielisku komórek miofibroblastycznych niekorzystnie oddziałuje na rokowanie; leczenie steroidami kory nadnerczy w połączeniu z

heparyną ma zmniejszać zarówno ilość miofibroblastów, jak i szybkość narastania niewydolności nerek [8]. Roberts w przypadku glomerulopatii błoniastej stwierdził, że zwiększenie liczby miofibroblastów w śródmiaższu nerki wykazuje istotny statystycznie związek ze stopniem włóknienia podścieliska i z czynnością nerki. Oba te czynniki wykazywały istotne znaczenie rokownicze [153]. Danilewicz także w glomerulopatii błoniastej stwierdził istotne zwiększenie ekspresji aktyny gładkomięśniowej w komórkach podścieliska nerki, zarówno w stosunku do grupy kontrolnej jak glomerulopatii minimalnej. W glomerulopatii błoniastej autor ten zauważył istotną statystycznie, dodatnią korelację pomiędzy obecnością miofibroblastów, a naciekami limfohistiocytarnymi i włóknieniem śródmiaższu [47].

Jak wspomniałem we wstępie, jedną z głównym przyczyn powstawania zmian podścieliskowo-kanalikowych w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek ma być oddziaływanie wysokich poziomów białka w przesączu na kanaliki nerkowe. Powoduje to aktywację komórek nabłonka kanalikowego, produkcję przez nie szeregu mediatorów i ostatecznie produkcję składników substancji pozakomórkowej przez miofibroblastyczne komórki pościeliska. Jak wskazuje wiele publikacji, poziom białkomoczu może oddziaływać bezpośrednio na rokowanie. Według wielu autorów wskaźnik ten należy do najważniejszych cech laboratoryjnych pozwalających na przewidzenie niekorzystnej ewolucji w przebiegu kłębuszkowych chorób nerek. Znaczenie rokownicze może mieć także skład obecnych w moczu pacjenta białek. Od dawna wiadomo, że w postępujących chorobach nerek, w tym w kłębuszkowych zapaleniach nerek, dieta niskobiałkowa daje polepszenie czynności nerki. Prawdopodobnie skutkuje także spowolnieniem progresji. Pewnym wytłumaczeniem dobrego efektu stosowania niskobiałkowej diety w kłębuszkowych zapaleniach nerek może być obniżenie w wyniku stosowania takiej diety produkcji TGF- β .

Jak wykazał Bazzi i współpracownicy, także wynik badania elektroforetycznego wydalanych z moczem białek, może być stosowany do określenia rokowania w kłębuszkowych zapaleniach nerek. Obecność w moczu białek o niskiej (poniżej 10kd) masie cząsteczkowej wiązała się w materiale tego autora z ryzykiem rozwoju przewlekłej niewydolności nerek dochodzącym do 50%, w porównaniu z 12% w pozostałych przypadkach. Zależność ta zachowywała statystyczną istotność także po ograniczeniu grupy badanej do przypadków w których poziom kreatyniny był niski. Według cytowanej publikacji skład wydalanych z moczem białek jedynie w bardzo niewielkim stopniu wiązał się z zaawansowaniem zmian śródmiaższowych [12]. Z drugiej strony ten sam zespół w późniejszej o kilka lat publikacji stwierdził istnienie istotnego związku pomiędzy stopniem selektywności białkomoczu a zaawansowaniem bliznowacenia śródmiaższu nerki [11]. Berg i współpracownicy uważają wzrost poziomu IgG w moczu za szczególnie czuły

wskaźnik ryzyka progresji niewydolności nerek [15]. Remuzzi i Bertani z kolei stwierdzili, że stosunek białkomoczu do poziomu kreatyniny jest doskonałym wskaźnikiem określającym ryzyko rozwoju przewlekłej niewydolności nerek w przebiegu chorób kłębuszkowych. W wypadku gdy ten stosunek jest mniejszy od jedności ryzyko niekorzystnego przebiegu ma być niewielkie [144].

Magil na materiale glomerulopatii błoniastej, także w wieloczynnikowej analizie regresji wykazał istnienie istotnej statystycznie korelacji pomiędzy poziomem białkomoczu a zaawansowaniem zmian podścieliskowo-kanalikowych. W jednoczynnikowej analizie zachodził też związek zmian podścieliskowych z poziomem białek osocza, który przestawał być widoczny w wieloczynnikowym modelu regresyjnym. Można więc uważać, że wpływ ten był całkowicie objaśniany przez wielkość białkomoczu. Przy tym, co ciekawe, cytowany autor nie odnotował związku pomiędzy poziomem kreatyniny a zmianami podścieliskowymi. Autor tłumaczy ten wynik efektem selekcji przypadków o mniejszym zaawansowaniu. Ponieważ Magil usuwał z badanego zbioru danych przypadki ze znacznymi zmianami naczyniowymi i włóknieniem obejmującym ponad 10% kłębuszków mógłby to być także argument na rzecz poglądu, że zmiany podścieliskowe są epifenomenem, natomiast o zachowaniu funkcji nerki decydują zmiany naczyniowe. Z drugiej strony, jak wspomniano powyżej, w wielu publikacjach związek pomiędzy objętością śródmiąższu nerki a poziomem kreatyniny był obecny jedynie gdy objętość podścieliska przekraczała 20% objętości kory nerki. W materiale Magila, przy powtórzeniu analizy z uwzględnieniem wszystkich przypadków pojawiała się oczekiwana korelacja pomiędzy objętością podścieliska a czynnością nerki [107].

Narzuca się pytanie, czy występuje istotny statystycznie związek pomiędzy poziomem białkomoczu a zaawansowaniem zmian w obrębie podścieliska. Związku takiego nie wykazali Jepsen i Mortensen [75]. W glomerulopatii błoniastej Roberts stwierdził natomiast istotny statystycznie związek pomiędzy obecnością miofibroblastów w podścielisku nerki a poziomem białkomoczu. Poziom białkomoczu nie wiązał się natomiast z objętością podścieliska nerki [153]. We własnym materiale także nie stwierdziłem istnienia statystycznie istotnego związku pomiędzy poziomem białkomoczu w okresie wykonywania biopsji, a zmianami podścieliskowymi. W kontekście znaczenia białkomoczu dla patogenezy włóknienia podścieliska wynik badań własnych, jak też przytoczone dane z literatury mógłby się wydawać zaskakujące. Jednak po rozważeniu tego zagadnienia można przytoczyć przyczyny które mogą być odpowiedzialne za to, że związku pomiędzy wzrostem względnej objętości podścieliska a poziomem białkomoczu nie udaje się wykazać.

Po pierwsze zależność pomiędzy białkomoczem, a włóknieniem podścieliska jest złożona i w powstawaniu zmian podścieliskowych biorą udział także inne czynniki, takie jak substancje produkowane przez komórki zapalne w samym kłębuszku, czy reakcja immunologiczna przebiegająca we śródmiąszu. W indukowaniu zmian w obrębie nabłonka kanalikowego i co za tym idzie w podścielisku istotne znaczenie może mieć także biochemiczny skład białek dostających się do moczu.

Po drugie okres w którym rozwijają się przewlekłe zmiany podścieliskowo-kanalikowe może być długi a badania poziomu białkomoczu w chwili wykonania biopsji niekoniecznie odzwierciedla średni poziom białkomoczu w dłuższym okresie czasu. Z tym wytłumaczeniem nie w pełni zgadzają się wyniki otrzymane w glomerulopatii błoniastej przez Danilewicza i współpracowników [36]. Autor ten stwierdził wyraźny i istotny statystycznie wzrost objętości podścieliska u chorych bioptowanych we wczesnym okresie, bo średnio w około sześć miesięcy od pojawienia się objawów. Podobne wnioski wypływają też z publikacji Hrubego i współpracowników którzy wzrost względnej objętości podścieliska stwierdzali już w bardzo wczesnej fazie rozmaitych chorób kłębuszkowych [69].

Zależności pomiędzy objętością podścieliska nerki a funkcją tego narządu nie są swoiste dla kłębuszkowych zapaleń nerek. Podobne jak w kłębuszkowych chorobach nerek związki wzrostu objętości śródmiąszu nerki ze wskaźnikami upośledzenia czynności nerek wykazano także w przebiegu skrobiawicy [105]. W wypadkach tych występował także wysoce znamienny związek wydolności nerki z ilością amyloidu odłożonego w kłębuszkach. W wypadku nerki przeszczepionej włóknienie i wzrost objętości podścieliska wiążą się też z utratą czynności narządu i stanowią istotną przyczynę utraty czynności przeszczepionej nerki. Zjawiska te mogą być przejawem rozwoju przewlekłego odrzucania. Włóknienie podścieliska przeszczepionej nerki może być także wywołane ubocznym działaniem stosowanych leków. Szczególnie w przebiegu uszkodzenia nerki wywołanego cyklosporyną objętość śródmiąszu wyraźnie wzrasta. Wzrost ten koreluje ze spadkiem parametrów wydolności nerki. Young i współpracownicy, którzy badali chorych na łuszczycę także leczonych cyklosporyną uzyskali odmienne wyniki [207]. Autorzy ci nie stwierdzili istnienia korelacji pomiędzy stopniem włóknienia podścieliska a czynnością nerki. Włóknienie śródmiąszu nerki w pracy tych autorów wykazywało natomiast związek z wiekiem chorych i z poziomem ciśnienia tętniczego. Zmiany te mogłyby więc odpowiadać 'fizjologicznemu' włóknieniu podścieliska. Różnice pomiędzy wynikami uzyskanymi w cytowanych powyżej pracach mogą wynikać z tego, że w leczeniu łuszczycy stosowano niższe, a co za tym idzie mniej nefrotoksyczne dawki cyklosporyny.

Lane i współpracownicy [94] dokonywali pomiarów zarówno zmian kłębuszkowych jak też podścieliskowych powstających w przebiegu cukrzycy typu I. Autorzy ci stwierdzili istnienie związku pomiędzy poziomem filtracji kłębuszkowej a wzrostem objętości podścieliska a także przybytkiem mezangium. Co więcej, w przebiegu cukrzycy zaobserwowano występowanie znamiennej statystycznie relacji pomiędzy zaawansowaniem zmian kłębuszkowych i pozakłębuszkowych. Możliwym czynnikiem patogenetycznym byłoby szkliwienie drobnych naczyń. Podobnie Akikusa i współpracownicy stwierdzili, że w przebiegu systemowych zapaleń naczyń przebiegających z zajęciem nerek nasilenie nacieków śródmiąższowych wykazuje istotny statystycznie związek z nasileniem *glomerulitis* [2]. Wyniki te są szczególnie interesujące w kontekście braku korelacji pomiędzy zmianami kłębuszkowymi i pozakłębuszkowymi w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek. Lee i Kim [97] badali zmiany kłębuszkowe oraz objętość śródmiąższu nerki w przebiegu stanu przedrzucawkowego, oraz w wypadku idiopatycznego ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków. Autorzy ci stwierdzili, że objętość mezangium w stanie przedrzucawkowym jest średnio dwukrotnie wyższa; równocześnie objętość śródmiąższu nerki jest istotnie mniejsza w wypadku ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków. Także ciekawe było występowanie różnic pomiędzy korelacjami klirensu kreatyniny i parametrów histometrycznych w obu grupach. W wypadku samoistnego ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków, stwierdzono korelację pomiędzy wydolnością nerek a objętością śródmiąższu nerki i mezangium kłębuszka. Wyniki te były podobne otrzymane przez innych autorów. Natomiast w grupie pacjentek ze stanem przedrzucawkowym klirens kreatyniny nie wiązał się ze zmianami podścieliskowymi, natomiast wykazywał korelację jedynie ze zmianami w samych kłębuszkach. Nasuwa się podejrzenie, że wyniki te mogą do pewnego stopnia tłumaczyć występowanie relatywnie dobrego rokowania odległego co do czynności nerek po przebyciu zatrucia ciążowego.

Wągrowska-Danilewicz badała zmiany w nerkach pacjentów zmarłych w przebiegu marskości wątroby, bez objawów niewydolności nerek i stwierdziła szereg zmian kłębuszkowych, jak wzrost wielkości kłębuszków, wzrost ilości macierzy i wzrost komórkowości, którym nie towarzyszyły istotne zmiany podścieliskowe. Wspiera to opinie o obecności zmian morfologicznych w nerce chorych na marskość wątroby przy braku istotnych biochemicznych cech upośledzonej czynności nerek i dowodzi znaczenia zmian w śródmiąższu nerki dla rokowania [192].

Podsumowując, można stwierdzić nieco zaskakujące relacje pomiędzy zmianami kłębuszkowymi, pozakłębuszkowymi i czynnością narządu w rozmaitych chorobach nerek. Mianowicie w kłębuszkowych zapaleniach nerek wtórne do czynnika inicjującego proces

chorobowy zmiany w podścielisku i kanalikach są niezależnym czynnikiem prognostycznym. Natomiast w cukrzycy, gdzie proces chorobowy pierwotnie dotyczy wszystkich elementów nerki, zmiany kłębuszkowe i pozakłębuszkowych są ściśle ze sobą powiązane.

Wyjaśnienie przyczyny dla której wzrost objętości podścieliska nerki jest najskuteczniejszym wskaźnikiem rokowniczym w przebiegu kłębuszkowych chorób nerek nie jest ani proste ani oczywiste. Rozległość i anatomiczna ciągłość śródmiąższu w obrębie nerki może ułatwiać szerzenie się procesu chorobowego w całym narządzie, w tym też na takie obszary, które były przez pierwotny proces oszczędzone [121]. W rutynowej biopsji nerki zwiększenie ilości podścieliska ma często charakter nierównomierny. Jak pokazano w niniejszej pracy, zmienność frakcji kory nerki zajętej przez podścielisko wykazuje związek z pogorszeniem funkcji nerki. Zjawisko to można by tłumaczyć tym, że różne zaawansowanie zmian w różnych obszarach podścieliska odzwierciedla zmienną aktywność i zaawansowanie zmian w obrębie leżących tam nefronów. W związku z tym dane na temat zmian podścieliskowych mogą przekazywać informację o większym obszarze nerki, aniżeli nefrony a szczególnie kłębuszki fizycznie obecne w badanym materiale histologicznym. Jednak rozumowanie takie traci ważność, gdy do objaśnienia zachowania parametrów czynności nerki zastosuje się model wieloczynnikowy. Analiza taka pokazuje, że nierównomierność objętości podścieliska wykazuje ujemną korelację ze wskaźnikami upośledzenia czynności nerki. Tak więc jedynie rozległe, względnie równomierne pomnożenie objętości śródmiąższu nerki wiąże się z pogorszeniem biochemicznych wskaźników czynności tego narządu, a zmiany o charakterze ogniskowym mają mniejsze znaczenie. Taki wniosek może znaleźć bezpośrednie zastosowanie w rutynowej diagnostyce biopsji nerek. Pośrednio wyniki tę mogą potwierdzać przytoczoną wyżej opinię, sugerującą, że to właśnie rozległość i równomierność zmian podścieliskowych odpowiada za użyteczność rokowniczą pomiarów objętości podścieliska nerki.

Duża użyteczność zmian podścieliskowych w ocenie rokowania może wynikać także z tego, że ich pomiar jest znacznie mniej podległy efektowi pobierania próby niż zmiany kłębuszkowe. Upośledzenie czynności nerki może być zależne bardziej od uogólnionego zmniejszenia funkcji zachowanych nefronów, niż od prostego zmniejszenia ich liczebności [83, 103]. Oceniany na podstawie biopsji odsetek kłębuszków całkowicie zeszkliwiałych jest wysoce podatny na działanie czynników losowych. Biorąc pod uwagę fakt, że ilość nefronów w każdej nerce u zdrowego człowieka wynosi 800 000 - 1 200 000 [22], podczas gdy ilość kłębuszków w bioptacie rzadko przekracza 20 - 30, histologicznie badane jest najwyżej jedynie 1/27 000 - 60 000 wszystkich kłębuszków.

Sklerotyzacja części kłębuszków u osób nie wykazujących cech chorób nerek oraz związany z wiekiem wzrost objętości śródmiąższu są zjawiskami dobrze udokumentowanym, zarówno u ludzi, jak u zwierząt doświadczalnych. Związane z wiekiem pojawianie się zwłókniałych kłębuszków w nerkach osób nie wykazujących innych cech uszkodzenia nerki bywa tłumaczone zmianami w naczyniach nerkowych. Zmiany te również pogłębiają się z wiekiem, co może sugerować wspólne pochodzenie. Potwierdza to Kasiske, który stwierdził, że stopień stwardnienia naczyń wiąże się z liczbą zeszkliwiałych kłębuszków [76]. Odmienne wyniki otrzymał jednak McLachlan, który nie stwierdził istotnych związków pomiędzy zmianami naczyniowymi a odsetkiem zwłókniałych kłębuszków [112]. W populacji zdrowych ludzi w wieku poniżej 40 roku życia odsetek zwłókniałych kłębuszków może dochodzić do 5%, a po 55 roku życia może sięgać przekraczać 10%, aby po 70 roku życia osiągnąć wartości aż do około 30% [75, 79].

Kappel podał dane dotyczące odsetka zeszkliwiałych kłębuszków u osób nie wykazujących cech chorób nerek. Dane te były uzyskiwane na podstawie materiału sekcyjnego lub co cenniejsze biopsji 'zerowych' wykonywanych w ramach oceny potencjalnego dawcy przeszczepu. Równania regresji opisujące odsetek zeszkliwiałych kłębuszków w zależności od do wieku w zdrowej populacji [79]:

- dla przypadków sekcyjnych: odsetek zeszkliwiałych kłębuszków= $-9,62+0,62*\text{wiek w latach}$
- dla dawców przeszczepów odsetek zeszkliwiałych kłębuszków= $-1,20+0,06*\text{wiek w latach}$

Różnice pomiędzy danymi uzyskanymi od dawców przeszczepów i z materiału sekcyjnego były istotne statystycznie. Autorzy tłumaczą istnienie tych różnic tym, że sekcyjne przypadki anatomopatologiczne, nawet po wykluczeniu zgonów z powodu chorób przewlekłych, z całą pewnością nie stanowią populacji w pełni normalnej. Autorzy nie stwierdzili natomiast istotnych różnic pomiędzy płciami w zakresie żadnego z badanych parametrów.

Analogiczne dane dotyczące odsetka zeszkliwiałych kłębuszków przedstawia Kaplan. Autor ten posłużył się w materiałem sekcyjnym, głównie z sekcji sądowo-lekarskich [77].

Dane w tabeli 21, przedstawiają w przybliżeniu liniową zależność pomiędzy wiekiem a odsetkiem zeszkliwiałych kłębuszków, podobnie jak w pracy Kappela. Wartości odsetka zeszkliwiałych kłębków podawane przez obu autorów istotnie różnią się między sobą (Friedman ANOVA i test Wilcoxona). Jednak można stwierdzić, że wartości pochodzące z populacji dawców przeszczepu nerki u Kappela znajdują się w zakresie tolerancji dla normalnej populacji

Tabela 21. Odsetek zeszkliwiałych kłębuszków. Średnia i granice 95% populacji. Kaplan i współpracownicy [77].

wiek	dolna granica	średnia	górna granica
5	0	0, 1	4, 3
15	0	0, 4	6, 2
25	0	1, 1	8, 4
35	0	2, 1	10, 9
45	0	3, 5	13, 6
55	0, 2	5, 2	16, 7
65	0, 6	7, 2	19, 9
75	1, 5	9, 5	23
85	2, 7	12, 1	27, 1

w pracy Kaplana. W związku z tym można uważać, że uzyskane przez obu autorów dane nie są sprzeczne ze sobą.

Obecność pojedynczych zeszkliwiałych kłębuszków nawet w reprezentatywnym bioptacie nie musi stanowić więc cech obecności choroby nerek, a tym bardziej nie umożliwia określenie rokowania. Powyższe wytłumaczenie ograniczonej wartości rokowniczej zmian w kłębuszkach może być szczególnie wiarygodne w takich chorobach, jak ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków, gdzie zmiany kłębuszkowe ze swej natury nie są równomiernie rozłożone. Z drugiej strony przeciwko takiemu wytłumaczeniu przemawia przykład glomerulopatii błoniastej. W chorobie tej zmiany kłębuszkowe zajmują dość równomiernie wszystkie ciała nerkowe. Równocześnie w tej jednostce chorobowej wzrost objętości podścieliska z pewnością wiąże się z mniej korzystnym przebiegiem klinicznym [193], podczas gdy zaawansowanie zmian w obrębie kłębuszków ma mniejsze znaczenie rokownicze. W każdym razie, zaproponowane wyjaśnienie pozostaje w zgodzie z wynikami uzyskanymi we własnym materiale, gdzie odsetek zeszkliwiałych kłębuszków wykazywał znacznie słabszy związek z funkcją nerki niż frakcja objętości kory nerki zajętej przez podścielisko.

W materiale własnym odsetek zwłókniałych kłębuszków nie wykazywał istotnych statystycznie związków z badanymi wskaźnikami grubości błony wewnętrznej ani środkowej tętnic. Jedynie związek ze wskaźnikiem odsetkowym grubości błony środkowej naczynia zbliżał się do poziomu istotności statystycznej ($R = -0,17$ $p = 0,08$). Natomiast odsetek zwłókniałych ciałek nerkowych wykazywał obecność istotnej statystycznie, dodatniej korelacji z indeksem zmian szklitych na poziomie tętniczek ($R = 0,29$ $p = 0,00015$). Podobne związki w przebiegu nefropatii cukrzycowej stwierdzał Lane [94]. Parametry naczyniowe dotyczące zarówno błony

wewnętrznej i środkowej tętnic, jak też szkliwienia tętniczek silnie korelowały z wiekiem pacjentów. Odsetek zwłókniałych kłębuszków wykazywał silną, dodatnią korelację z wiekiem ($R=0,31$ $p=0,00003$). Z wyników tych można wysnuć wniosek, że tak zmiany naczyniowe jak stopień włóknienia kłębuszków są od siebie niezależnie i nawzajem wiążą się z wiekiem pacjenta.

Mimo zaprezentowanych dowodów, że zmiany pozakłębuszkowe, w tym szczególnie wzrost objętości podścieliska są istotne dla czynności nerki i rokowania pogląd ten bywa jednak kwestionowany. W szczególności niektórzy autorzy podważają istnienie tu związku przyczynowego.

Katafuchi i współpracownicy porównywali w chorobie Bergera znaczenie prognostyczne półilościowej oceny zmian kłębuszkowych, z pełnym indeksem zmian histologicznych, obejmującym zarówno zmiany podścieliskowe jak i naczyniowe. Autorzy ci zyskali bardziej wiarygodne przewidywanie przebiegu choroby przy ograniczeniu oceny jedynie do zmian w samych kłębuszkach. Z drugiej strony nieco wcześniej ten sam zespół stwierdził, że przy zastosowaniu analizy wieloczynnikowej wzrost objętości i włóknienie podścieliska nerki jest istotnym wskaźnikiem ryzyka rozwoju niewydolności narządu [80, 81].

Soma i współpracownicy stwierdzili, że w przeciwieństwie do choroby Bergera w przebiegu błoniasto-rozplemowego kłębuszkowego zapalenia nerek zmiany w obrębie podścieliska i kanalików nie uczestniczą w progresji choroby. Autorzy ci porównywali zmiany względnej objętości podścieliska w tych dwu jednostkach chorobowych. Stwierdzili, że w przebiegu nefropatii IgA u chorych z niekorzystnym przebiegiem klinicznym występował znamieny wzrost objętości śródmiąższu. Natomiast u chorych na błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek nie obserwowano takiego wzrostu [177]. W materiale własnym, ze względu na rzadkie wykonywanie powtórnych biopsji, podobnej analizy nie mogłem przeprowadzić. Jednak aby uzyskać orientacyjne dane na ten temat, porównałem wartości współczynnika korelacji pomiędzy objętością podścieliska a poziomem kreatyniny w wypadku tych dwu jednostek chorobowych. Stwierdziłem, że wartości liczbowe współczynników korelacji różnią się wyraźnie między sobą; dla choroby Bergera $r=0,326$ podczas gdy dla błoniasto-rozplemowego kłębuszkowego zapalenia nerek $r=0,038$. Jednak obie grupy różnią się także znacznie liczebnością przypadków. W związku z tym różnice pomiędzy wymienionymi współczynnikami korelacji nie są istotne statystycznie ($p=0,58$).

Pośrednim argumentem przeciwko temu, że procesy toczące się w podścielisku miałyby w istotny sposób uczestniczyć w rozwoju przewlekłego uszkodzenia nerki ma być to, że pierwotne śródmiąższowo-kanalikowych zapalenia nerek są zwykle chorobami o powolny, długotrwałym

przebiegu. Tłumaczy się to jednak tym, że w chorobach śródmiąższowych brak jest pierwotnie występującego uszkodzenia dużej puli nefronów które jest obecne w kłębuszkowych zapaleniach nerek [121].

Innym argumentem wysuwany przeciwko pogładowi, że zmiany podścieliskowe są istotne dla rozwoju niewydolności nerek jest fakt, że objętość podścieliska nerki rośnie samoistnie z wiekiem, zarówno w populacji osób nie wykazujących cech ani klinicznych ani morfologicznych pierwotnej choroby nerek, jak u osób z udokumentowaną nefropatią. Mechanizm ‘fizjologicznego’ włóknienia podścieliska ma natomiast być związany z działaniem TGF- β , a więc analogiczny do włóknienia ‘patologicznego’ [48, 54].

Równania regresji opisujące odsetek podścieliska w zależności od do wieku w zdrowej populacji podał Kappel [79]:

- dla przypadków sekcyjnych: frakcja podścieliska= $23,8+0,10*\text{wiek w latach}$
- dla dawców przeszczepów: frakcja podścieliska= $12,45+0,11*\text{wiek w latach}$

Równoległe do wzrostu względnej objętości podścieliska nerki spada wydolność tego narządu, co może być wykazane w testach czynnościowych. I tak Danilewicz u znalazł istotnie wyższe wartości odsetka objętości kory zajętego przez podścielisko u chorych z nefropatią IgA starszych niż 45 lat, aniżeli w młodszej grupie wiekowej [41]. Analogiczne wyniki opublikował Mackensen-Haen [104]. Można by więc argumentować, że wzrost objętości podścieliska jest zjawiskiem towarzyszącym rozwojowi przewlekłej niewydolności nerek, ale nie mającym z nim związku. Dla odparcia takiego zarzutu konieczne jest uwzględnienie wieku pacjentów w analizie wpływu objętości podścieliska na funkcję nerki. Alternatywnym tłumaczeniem powyższych wyników może być bowiem to, że pacjenci starsi mogą mieć za sobą dłuższy bezobjawowy przebieg choroby. Szczególnie w wypadku choroby Bergera takie tłumaczenie wydaje się prawdopodobne ze względu na długotrwały i stosunkowo skąpoobjawowy przebieg kliniczny. We własnym materiale stwierdziłem, że rzeczywiście objętość podścieliska nerki w przebiegu kłębuszkowych chorób nerek rośnie z wiekiem. Jednak taki wzrost następuje szybciej niż w populacji zdrowej. Także związek statystyczny pomiędzy wydolnością nerki, a objętością podścieliska był silniejszy, aniżeli pomiędzy wydolnością nerki a wiekiem pacjentów. Podsumowując, z przeprowadzonych badań wynika, że wiek pacjentów nie wystarcza do wytłumaczenia, ani obserwowanego wzrostu frakcji objętości podścieliska, ani zmniejszenia wydolności nerek w przebiegu chorób kłębuszkowych.

Więcek i współpracownicy [197] badali zależność między proteinogramem i lipidogramem surowicy pacjentów z kłębuszkowymi zapaleniami nerek a zmianami morfologicznymi widocznymi w bioptacie. Z ich pracy wynika, że zmiany pozakłębuszkowe nie wykazują

związku badanymi objawami klinicznymi, natomiast istotna jest ilość zmienionych kłębuszków. Autorzy przyznają, w innych pracach doszukano się wpływu zmian pozakłębuszkowych na lipidogram i proteinogram.

Lane bazując na swoich badaniach dotyczących nefropatii cukrzycowej uważa, że wysoka wartość rokownicza zmian podścieliskowych jest swego rodzaju artefaktem, wynikającym ze stosowania przez większość autorów do oceny śródmiąższu metod ściśle ilościowych natomiast jedynie półilościowych metod do zmian w obrębie kłębuszków [94]. Taka opinia w odniesieniu do glomerulopatii nie zgadza się jednak z wynikami uzyskanymi przez takich autorów, jak Danilewicz [36], którzy potwierdzili że związki pomiędzy ilościowo ocenianymi zmianami w obrębie ciałek nerkowych a czynnością nerki są słabe i mało znaczące.

Występujące w części publikacji niezgodności w wynikach dotyczących rokowniczego znaczenia zmian podścieliskowych mogą być tłumaczone rozmaicie. Według Ong i Fine'a [130] jedną z przyczyn jest to, że część z obserwowanych zmian morfologicznych ma charakter odwracalny. NB, cofanie się zmian podścieliskowych może być indukowane stosowanym leczeniem, co pokazali Poveda i współpracownicy [142]. Podobnie Mackensen-Haen i współpracownicy [104] stwierdzili, że zależność pomiędzy objętością śródmiąższu nerki a poziomem kreatyniny jest silniejsza gdy ze zbioru analizowanych danych usunięto przypadki chorych wykazujących cechy ostrej niewydolności nerek. W związku z tym w niniejszej pracy pominięto pomiary poziomu kreatyniny i mocznika wykonywane w okresach znacznego zaostrzenia, szczególnie u kilku chorych u których stosowano krótkotrwałe, czasowe dializy. Jak wspomniano, zaobserwowano także silniejsze związki parametrów morfometrycznych z wartościami badań klinicznych wykonywanych przy wypisie chorego z oddziału, aniżeli z wartościami analogicznych pomiarów wykonywanych przy przyjęciu. Ponadto, jak twierdzi Nath, przynajmniej w części przypadków w powtarzanych seryjnie biopsjach okazuje się, że oceniane histologicznie zmiany podścieliskowe i biochemiczne wskaźniki niewydolności nerek nie postępują całkowicie równolegle [120]. Bywa tak, że w niektórych przypadkach wzrostowi objętości podścieliska towarzyszy wręcz spadek poziomu kreatyniny. Bennett i współpracownicy potwierdzili istnienie w nefropatii IgA związku pomiędzy objętością podścieliska a poziomem kreatyniny. Jednak w cytowanej pracy w powtarzanych u jednego pacjenta w kolejnych biopsjach brak było równoległości pomiędzy pogorszeniem czynności nerki, a wzrostem objętości śródmiąższu [14]. Jak wspomniano, w części przypadków niezgodność taka może wynikać z pojawienia się cech ostrej niewydolności nerek. Tego typu zmiany są stwierdzane w przebiegu choroby Bergera. Ze względu na to, że w moim materiale powtórne biopsje były sporadyczne, sprawdzenie powyższych obserwacji nie było możliwe.

Ciekawy jest wynik przeprowadzonej wielokrotnej regresji w odniesieniu do zmienności objętości podścieliska. W założeniu parametr ten miał pozwolić na odseparowanie przypadków w których wzrost objętości ma charakter ogniskowy. Tego typu zmiany są opisywane w biopsji jako ogniska bliznowacenia. Zamierzeniem było stwierdzenie, jak ogniskowy charakter zmian wpływa na czynność nerki. Jak wspomniano powyżej, w badaniu jednoczynnikowym występowała dodatnia korelacja pomiędzy poziomem kreatyniny i mocznika a zmiennością objętości podścieliska. Jak przedstawia tabela 16, w modelu wieloczynnikowym korelacja ma ujemny znak. Tak więc można wysnuć wniosek, że ogniskowy charakter bliznowacenia kory nerki osłabia niekorzystny wpływ wzrostu objętości kory nerki na czynność tego narządu.

2 Nacieki komórkowe w podścielisku nerki

Jak wspomniano powyżej, z badań nad patogenezą zmian pozakłębuszkowych w przebiegu kłębuszkowych chorób nerek wynika, że ważnym ogniwem patogenetycznym jest pojawienie się w obrębie podścieliska nacieków komórek zapalnych. Takie mniej lub bardziej intensywne nacieki są wykrywalne w podścielisku nerki w przebiegu licznych glomerulopatii. Wyjątkiem pozostaje *minimal change disease*. Komórki podścieliskowe to głównie limfocyty oraz makrofagi, a także stosunkowo mniej liczne granulocyty. Limfocyty obecne w naciekach zapalnych należą głównie do populacji T, z przy czym stosunek komórek CD4+ do CD8+ jest zwiększony [4, 32].

Komórki nacieku zapalnego wykazują cechy aktywacji. Komórki te uczestniczą w przekazywaniu bodźców pomiędzy nabłonkiem kanalikowym a komórkami śródmiąższu. Poprzez produkowane przez siebie cytokiny indukują przemianę komórek podścieliska w miofibroblasty a następnie produkcję przez nie substancji macierzy tkanki łącznej.

Metodyka oceny nasilenia nacieków w obrębie śródmiąższu nerki bywa różnaita. Akikusa i współpracownicy na przykład w systemowych zapaleniach naczyń liczyli ilość komórek w 20 polach widzenia pod dużym powiększeniem. Oceniali też odsetek kanalików nerkowych w obrębie których można było stwierdzić cechy *tubulitis* [2]. Furness do oceny nasilenia nacieków histiocytarnych posłużył się analizą obrazu. Odczyn immunohistochemiczny z zastosowaniem przeciwciała PGM1 ujawniał obecne w materiale makrofagi, natomiast zastosowany przez autora system komputerowej analizy obrazu oddzielał tak wyodrębnione obszary spośród struktury nerki i obliczał frakcję pola powierzchni przez nie zajętej [58]. Lee i współpracownicy liczyli ilość komórek podścieliskowych wykazujących dodani odczyn histochemiczny w kierunku antygenów swoistych dla różnych klas komórek nacieku zapalnego [96].

Intensywne nacieki komórkowe są widywane w materiale biopsyjnym przede wszystkim w wypadku chorób kłębuszkowych o wysokiej aktywności i znacznej klinicznej agresywności,

takich jak czynne, rozplemowe postaci nefropatii toczniowej, czy błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek. Ze względu na te obserwacje a także ze względu na przedstawioną rolę w patogenezie włóknienia podścieliska nerki, interesujące jest zagadnienie czy obecność nacieków komórkowych w obrębie podścieliska nerki może niekorzystnie oddziaływać na rokowanie. Odpowiedź na to pytanie według większości publikacji odpowiedź jest pozytywna. Pozostaje otwarta kwestia w jakim zakresie taki wpływ jest niezależnym czynnikiem prognostycznym [32].

Van Goor obliczał ilość makrofagów w kłębuszkach nerkowych oraz objętość mezangium u szczurów poddanych różnego stopnia częściowej nefrektomii. Autor stwierdził, że ilość makrofagów wiąże się ze stopniem uszkodzenia kłębuszka po utracie części mięszu nerkowego. Ze związku tego wysnuł wniosek, że makrofagi uczestniczą w patogenezie uszkodzenia nerki indukowanego utratą nefronów [61]. Roberts nie stwierdził aby czynność nerki i rokowanie w przebiegu glomerulopatii błonistej istotnie wiązały się z nasileniem nacieków zapalnych w podścielisku [153]. Lee i współpracownicy stwierdzili, że w chorobie Bergera ilość komórek zapalnych w podścielisku wykazuje dodatnią korelację z poziomem kreatyniny. Ilość komórek CD3, CD4 i CD8 dodatnich w cytowanej pracy wiązała się także ze średnimi wartościami ciśnienia tętniczego krwi. Autorzy ci nie stwierdzili natomiast istnienia podobnych korelacji w wypadku glomerulopatii błonistej [96]. Istotne znaczenie prognostyczne śródmiąższowych nacieków zapalnych w nefropatii IgA wykazali Freese i współpracownicy, gdzie obok zaniku kanalików i włóknienia podścieliska był to najistotniejszy czynnik rokowniczy [55]. Podobnie jak w wypadku włóknienia w obrębie kłębuszków i poza nimi, także ilość komórek nacieku zapalnego w podścielisku nerki ma lepiej korelować z utratą funkcji nerki niż komórkowość kłębuszka [4]. Według Naikera i współpracowników w przebiegu błoniasto-rozplemowego kłębuszkowego zapalenia nerek ilość komórek nacieku zapalnego w śródmiąższu ma istotnie oddziaływać na funkcję nerek [116]. Spośród badanych typów komórek zapalnych najistotniejsze znaczenie dla czynności nerki miały limfocyty T; słabsze, ale także statystycznie istotne związki ze wskaźnikami funkcji nerki wykazywały limfocyty B i makrofagi. Autorzy ci stwierdzili, że ilość komórek, głównie limfocytów T, na terenie podścieliska nerki w wypadku błoniasto-rozplemowego kłębuszkowego zapalenia nerek jest znamienne wyższa niż w wypadku innych chorób kłębuszkowych. Zgadza się to z przytoczonymi potocznymi obserwacjami, a także z wynikami uzyskanymi we własnym materiale na podstawie oceny półilościowej i pomiarów ilościowych. Faktycznie, w wypadku błoniasto-rozplemowego kłębuszkowego zapalenia nerek oceniana w skali punktowej średnia intensywność nacieków wynosiła 1,17 a średni odsetek objętości śródmiąższu zajęty przez nacieki wynosił 3,4% podczas gdy dla pozostałych

glomerulopatii odpowiednie wartości wynosiły 0,47 i 0,6%. Różnice te były istotne statystycznie (w teście U Mann-Whitneya odpowiednio $p=0,038$ i $p=0,0006$).

Co więcej, w cytowanej powyżej publikacji Naikera i współpracowników stwierdzono istnienie silnego związku statystycznego pomiędzy poziomem kreatyniny i ilością komórek nacieku zapalnego. Jednak jak przyznają sami autorzy, otrzymanie takich wyników może być spowodowane tym, że w tej agresywnej jednostce chorobowej często współistnieją nacieki zapalne intensywniejsze niż w grupie porównawczej. Tak więc wniosek o związku statystycznym pomiędzy ilością komórek nacieku zapalnego a poziomem kreatyniny niekoniecznie oznacza istnienie związku patogenetycznego i może wynikać jedynie z morfologicznych różnic pomiędzy poszczególnymi jednostkami chorobowymi.

Także w wypadku kłębuszkowych zapaleń nerek związanych z przeciwciałami przeciwneutrofilowymi do czynników rokowniczych należy rozległość nacieków podścieliskowych. Innymi wskaźnikami prognostycznymi jest pojawianie się w obrębie nabłonka kanalików martwicy oraz zanik cewek. Cecha obrazu histologicznego która najsilniej wiąże się z rokowaniem ma być odsetek niezmiennych kłębuszków [9].

W podścielisku, szczególnie w nefropatiach przewlekłych, pojawiają się, nieobecne w zdrowej nerce, komórki tuczne. Zjawisko to ma przejawiać się najdobitniej w nefropatii cukrzycowej, ale może występować także w w przebiegu innych chorób, w tym kłębuszkowych zapaleń nerek. Według Hiromury i współpracowników ilość mastocytów wykazuje korelację z upośledzeniem czynności nerki, natomiast nie wykazuje związku z poziomem białkomoczu. Jednak autorzy ci nie odpowiedzieli w swojej pracy na pytanie, czy obecność komórek tucznych jest niezależnym od włóknienia podścieliska czynnikiem prognostycznym. Jest to pytanie istotne, ponieważ występuje statystycznie istotny związek pomiędzy włóknieniem a ilością mastocytów [65]. Roberts i współpracownicy wykazali istnienie takiego związku w przebiegu licznych nefropatii, w tym kłębuszkowych chorób nerek [154]. Podobnie Danilewicz i Wągrowaska-Danilewicz stwierdzili, że w przebiegu błoniasto-rozplemowego kłębuszkowego zapalenia nerek liczebność komórek tucznych zarówno ze względną objętością podścieliska jak i czynnością nerki. Co więcej, autorzy ci zaobserwowali statystycznie istotne związki pomiędzy częstościami występowania mastocytów i miofibroblastów [45].

Przyjęta w niniejszej pracy metoda oceny nacieków podścieliskowych pozwala na łatwe i szybkie dokonanie pomiaru. Z tego względu możliwe byłoby jej zastosowanie w rutynowej diagnostyce nefropatologicznej. Z drugiej strony daje jedynie przybliżoną ocenę nacieków zapalnych w śródmiąszu nerki i może wydawać się zbyt mało dokładna. Mimo tego, w przeprowadzonej analizie jednoczynnikowej są obecne istotne statystycznie związki nasilenia

nacieków podścieliskowych ze wskaźnikami upośledzenia czynności nerki. Siła związku statystycznego jest jednak mniejsza niż w wypadku frakcji objętości podścieliska. Związek nacieków podścieliskowych z czynnością nerki nie jest jednak widoczny w przeprowadzonej analizie wieloczynnikowej. W związku z tym można stwierdzić, że nacieki zapalne w obrębie podścieliska nerek wiążą się z upośledzeniem czynności tego narządu, nie są jednak czynnikiem niezależnie wpływającym na funkcję nerki. Co za tym idzie wartość dla określenia rokowania pomiaru tego parametru, przynajmniej z zastosowaniem opisanej metody jest ograniczona. Zastosowanie analizy przeżyciowej metodą proporcjonalnych hazardów według Coxa ujawniło, że wprowadzenie objętości nacieków podścieliskowych nie jest istotnym czynnikiem rokowniczym, ale ich zmienność ma istotne znaczenie prognostyczne (w teście Walda $p=0,011$).

3 Cechy kanalików nerkowych jako czynnik rokowniczy

Pomiary kanalików nie są często wykonywane. W pewnym stopniu wynika to z trudności w przeprowadzeniu pomiarów. Trudności te wynikają po pierwsze z konieczności wykonania pomiarów wydłużonej struktury przeciętej pod przypadkowym kątem. Po drugie, struktura i rozmiary komórek nabłonka kanalikowego w znacznym stopniu zależą od sposobu utrwalenia a także przeprowadzenia materiału. Widoczne jest to w badaniach na zwierzętach przy porównywaniu budowy nerki utrwalonej przez perfuzję, z nerką utrwaloną przez zanurzenie w roztworze utrwalacza.

Bardzo prostą metodą pomiaru wielkości cewek nerkowych posłużyli się Mackensen-Haen i współpracownicy, którzy wykonywali liniowy pomiar średnicy wewnętrznej i zewnętrznej ocenianych kanalików [103]. W innej pracy ci sami autorzy zastosowali metodę liczenia punktów do oceny pola przekroju cytoplazmy komórek nabłonka kanalików, ich światła oraz podścieliska, oraz obrysowywanie przekrojów kanalików za pomocą digitizera [104]. Okada i współpracownicy w ocenie kanalików stosowali liniowy pomiar ich wewnętrznej i zewnętrznej średnicy, a także ocenę frakcji długości kanalików standartową metodą stereologiczną [128]. Yasuda i współpracownicy [206] badali zmiany w obrębie kanalików w przebiegu nefropatii wywołanej przewlekłym zatruciem kadmem (choroba Itai-Itai). Autorzy ci obliczali średnią frakcję objętości kory nerki zajmowaną przez kanaliki posługując się siatką stereologiczną i metodą liczenia punktów. Hruby i współpracownicy wykonywali pomiary pola przekroju kanalików wydzielonych z obrazu poprzez progowanie z użyciem analizy histogramu [69]. Khan i Sinniah stosowali metodę liczenia punktów do pomiaru pola przekroju poszczególnych segmentów kanalików znakowanych za pomocą lektyn oraz immunohistochemicznie [86]; podobnie postąpił Mackensen-Haen i współpracownicy [103]. Metody oceny kanalików z zastosowaniem specjalnych metod do oznaczania poszczególnych części nefronu pozwalają na

bardzo dokładną kategoryzację mierzonych elementów. Z drugiej strony, ze względu na pracochłonność i podniesienie kosztów, zastosowanie takiego postępowania w rutynowej diagnostyce nie byłoby praktyczne. Także, ponieważ obecnie wykonywane biopsje są niewielkie, klasyfikacja widocznych w materiale przekrojów cewek na wiele kategorii może powodować tworzenie grup o niewielkiej liczebności co znacznie utrudniłoby przeprowadzenie analizy danych.

W pracy niniejszej posłużono się metodą wzorowaną na Yasudzie i Mackensen-Haenie. Zastosowanie siatki i metody liczenia punktów pozwoliło na stosunkowo mało pracochłonną i łatwą ocenę zadanych parametrów.

Jak omówiono we wstępie, jednym z istotnych elementów patogenezy zmian pozakłębuszkowych jest oddziaływanie komórki nabłonka kanalikowego. Zaburzenia czynności kanalików mają być także współodpowiedzialne za rozwój przewlekłej niewydolności nerek w przebiegu długotrwałych chorób kłębuszkowych, a według niektórych autorów jest w tej mierze wręcz decydujące. Zmiany w nabłonku kanalików nerkowych mogą więc potencjalnie stanowić czynnik prognostyczny. W rutynowym materiale biopsyjnym zanik kanalików widoczny jest zwykle w połączeniu z bliznowaceniem podścieliska lub z obecnością nacieków zapalnych.

Jak wspomniano, kanaliki nerkowe nieczęsto były przedmiotem oceny ilościowej; trudności w ocenie wynikają między innymi z tego, że ich wygląd i rozmiary w preparacie histologicznym zależą od szybkości i sposobu utrwalenia materiału. W warunkach innych niż doświadczalne trudno jest zapewnić stałe warunki przygotowania i przeprowadzenia materiału, a w pracy opartej na materiale archiwalnym, tak jak niniejsza, jest to niemożliwe. Aby przetestować hipotezę, że czas upływający od utrwalenia może mieć wpływ na rozmiary kanalików nerkowych, postanowiłem sprawdzić zależność pola przekroju kanalików nerkowych od tego, z którego oddziału pochodzi bioptat. Taka próba wynika z tego, że brak jest danych co do czasu który w poszczególnych przypadkach upłynął pomiędzy pobraniem materiału na oddziale klinicznym, a utrwaleniem przeprowadzanym w pracowni histologicznej. W związku z tym przyjąłem, że ze względów organizacyjnych, czas transportu materiału z określonego oddziału szpitalnego jest w przybliżeniu stały i różnice pomiędzy oddziałami mogą odzwierciedlać różnice w czasie od pobrania do utrwalenia materiału.

Porównanie danych dotyczących kanalików względem oddziałów szpitalnych za pomocą nieparametrycznej analizy wariancji metodą Kruskal-Wallisa nie wykazało obecności istotnych różnic. Korzystając z faktu, że zmienne opisujące kanaliki charakteryzowały się rozkładem normalnym (w teście Komogorowa-Smirnowa $p > 0,05$), a co więcej grupy przypadków pochodzących z poszczególnych szpitali nie były małe, do porównania zastosowano

jednokierunkową analizę wariancji. Metoda ta wykazała istnienie istotnych statystycznie różnic w wartościach pola przekroju nabłonka kanalikowego ($p < 0,025$). W celu wyjaśnienia pochodzenia tej zmienności posłużono się testem post-hoc metodą najmniejszej istotnej różnicy. Test ten wykazał istnienie istotnych różnic pomiędzy różnymi oddziałami, zarówno zlokalizowanymi w Krakowie, jak w innych miastach; jedynie przypadki pochodzące w Kliniki Nefrologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego nie różniły się istotnie od żadnego z pozostałych oddziałów. Podsumowując, można przypuszczać, że stopień autolizy materiału mógł mieć pewien wpływ na otrzymane wyniki. Postanowiono jednak włączyć dane dotyczące kanalików nerkowych do dalszej analizy, ponieważ uzyskanie dokładniejszych danych z rutynowego materiału biopsyjnego nie byłoby możliwe, a głównym odniesieniem niniejszej pracy są możliwości zastosowania właśnie w rutynowej diagnostyce.

Khan rozpatrywał rozmaite postaci kłębuszkowych zapaleń nerek i obok związku pomiędzy klirensiem kreatyniny a objętością podścieliska kory nerki wykazał także związek parametrów czynnościowych nerki ze stopniem uszkodzenia kanalików zarówno bliższych jak i dalszych. Autor ten stwierdził, że szczególnie skutecznym wskaźnikiem rokowniczym jest pomiar pola przekroju kanalika dalszego. To, że zmiany w obrębie kanalika dalszego pojawiają się łatwo i we wczesnym okresie ma wynikać z fizjologicznych właściwości komórek nabłonka. Faktycznie, w cytowanej pracy zmiany w dalszych kanalikach były bardziej nasilone niż w bliższych. Silny związek z czynnością nerki znajduje z kolei uzasadnienie w roli dystalnych cewek w ich roli w równowadze kłębuszkowo - kanalikowej [86]. Z drugiej strony Hruby stwierdził, że zmiany we wczesnej fazie przebiegu glomerulopatii dotyczą głównie proksymalnych części cewek nerkowych [69]. We własnym materiale były obecne, podobne jak w przytoczonych pracach Khana i Hrubego związki parametrów czynnościowych nerki z polem przekroju kanalika bliższego. Dla stwierdzenia, czy parametr ten wpływa na czynność narządu w sposób niezależny od innych czynników, zastosowano metodę regresji wielokrotnej. Zastosowanie tej metody ujawniło, że pole przekroju kanalika bliższego miało pewien wpływ na poziom kreatyniny, chociaż istotność statystyczna tego związku jest niewielka. Wskazuje to na możliwość, że zmiany kanalikowe mogą wywierać pewien niezależny wpływ na czynność nerek i na rokowanie w przebiegu glomerulopatii. Natomiast, odmiennie niż w cytowanej pracy Khana, w materiale własnym zmiany pola przekroju kanalików dalszych nie wykazywały istotnego związku z czynnością nerki.

W pracy Mackensen-Haena i współpracowników objętość śródmiąższu w przebiegu różnych glomerulopatii wykazywała silny związek z poziomem kreatyniny, natomiast pola powierzchni przekroju nabłonka kanalika bliższego oraz pętli Henlego wiązały się raczej z osmolarnością

moczu. Autorzy tej pracy nie znaleźli natomiast cech istotnego kompensacyjnego zwiększenie objętości kłębuszka, o ile nie występowała całkowita sklerotyzacja co najmniej 90% ciałek nerkowych. Ten ostatni wniosek jest odmienny, niż wyniki przedstawiane w pracach innych autorów [103]. Także posługując się materiałem obejmującym jedynie przypadki choroby Bergera Mackensen-Haen i współpracownicy wykazali związek poziomu kreatyniny nie tylko z objętością podścieliska, ale też z polem przekroju kanalików bliższych. Ten ostatni związek był obecny jedynie wtedy, gdy z badanej grupy usunięto przypadki chorych z cechami ostrej niewydolności nerek [104]. W pracy Freese i współpracowników zanik kanalików koreluje z progresją nefropatii IgA. Autorzy ci badali przypadki choroby Bergera w których chorzy rozwinęli w okresie obserwacji schyłkową niewydolność nerek wymagającą leczenia nerkozastępczego i stwierdzili, że w takim materiale włóknienie podścieliska, nacieki w jego obrębie, oraz zanik kanalików występują znacząco częściej niż w innych przypadkach [55].

4 Nadciśnienie - patogeneza i rola w progresji kłębuszkowych zapaleń nerek

Zmiany w naczyniach nerkowych nie były tak często przedmiotem oceny jak podścielisko nerki i rozmaici autorzy posługują się różną metodyką. Bardzo prostą metodą posłużył się Kasiske [76]. Autor ten przyjmując że światło i cały przekrój naczynia tętniczego ma kształt elipsy wykonywał pomiary wzdłuż osi mniejszej (a) i większej (b) , a następnie obliczał pole powierzchni przekroju posługując się wzorem:

$$s = \frac{1}{4}\pi ab$$

Sposób ten nie uwzględnia zmian we względnej grubości poszczególnych warstw ściany naczynia, ani zniekształceń które w obrębie ścian naczyń powstają w trakcie preparatyki histologicznej.

Nieco odmienną, choć zbliżoną technikę pomiarową tętnic zastosował w swoich pracach Tracy [186, 188, 190]. Dla oceny fibroplazji wykonywał pomiary grubości błony wewnętrznej i środkowej naczyń dzielonych według średnicy zewnętrznej na dwie grupy: pomiędzy 80 a 150 μ m i pomiędzy 150 a 300 μ m. Zmiany w drobniejszych naczyniach nie były brane pod uwagę przy ocenie tą metodą. Ponadto w części publikacji autor uwzględniał liczbę komórek mięśniowych gładkich (liczonych jako ilość ich jąder identyfikowanych w barwieniu hematoksyliną i eozyną) w błonie wewnętrznej. Grubość błony wewnętrznej była wyrażana jako odsetek całkowitej średnicy naczynia. Metodyka Tracy'ego pozwala na określanie zmian w obrębie poszczególnych warstw tętnicy, pozostaje jednak podatna na zniekształcenia wywołane podczas przygotowania materiału do badania.

Metoda opisana przez Sawai [162] ma pozwolić na zmniejszenie efektu zniekształcenia ściany naczyniowej w preparacie histologicznym. Autor w swej pracy wykonywał pomiary pod wysokim powiększeniem, biorąc pod uwagę naczynia o promieniu od 50 do 100µm, jako najbardziej wrażliwe na uszkodzenie pochodzenia zarówno nadciśnieniowego, jak też w przebiegu kolagenoz. Za pomocą digitizera wprowadzał do systemu komputerowego obrysy błony wewnętrznej, wewnętrznej blaszki sprężystej oraz błony środkowej. Następnie normalizował pomiary, aby otrzymać pole światła naczynia po "wyprostowaniu" wewnętrznej blaszki sprężystej przy zachowaniu niezmiennego pola powierzchni błony wewnętrznej naczynia:

$$S_L + S_I = \pi \left[\frac{L}{2\pi} \right]^2 = \frac{L^2}{4\pi}$$

gdzie

S_L - pole powierzchni światła naczynia

S_I - pole powierzchni błony wewnętrznej

L - długość obwodu blaszki sprężystej wewnętrznej

Z powyższego wzoru Sawai wyprowadził Współczynnik Pogrubienia Blaszki Wewnętrznej (Ratio of Intimal Thikening - RIT) jako

$$RIT = \frac{S_I}{S_I + S_L} = \frac{4\pi S_I}{L^2}$$

Katafuchi [82] badał zmiany w naczyniach nerkowych w przebiegu pierwotnego nadciśnienia. Autor ten przeprowadził pomiary na kilka sposobów. Po pierwsze, indeks zmian szklitych był tworzony przez liczenie w preparatach barwionych paS naczyń w kategoriach: 1) bez istotnych zmian, 2) zmiany szkliste obejmujące mniej niż 50% obwodu naczynia, 3) zmiany obejmujące więcej niż 50% obwodu, ale nie cały obwód 4) zmiany obejmujące cały obwód naczynia. Liczbę naczyń w poszczególnych kategoriach mnożono przez numer kategorii, sumowano i obliczano indeks zmian szklitych jako ważoną średnią:

$$Izs = \frac{N0 + 2 * N1 + 3 * N2 + 4 * N3}{N0 + N1 + N2 + N3}$$

Gdzie

Izs - indeks zmian szklitych

$N0$ - liczba naczyń nie wykazujących zmian szklitych

$N1$ - liczba naczyń ze zmianami obejmującymi mniej niż 1/2 obwodu

$N2$ - liczba naczyń ze zmianami obejmującymi więcej niż 1/2 obwodu, ale nie cały obwód

$N3$ - liczba naczyń ze zmianami cały obwód

Analogicznie skonstruowane indeksy ilościowe zmian szklitych stosowali Lee i Koh badając glomerulopatię błoniastą [98], a w wypadku nefropatii cukrzycowej także Lane [94].

Tracy oceniał zmiany szkliste licząc naczynia nimi objęte na jednostkę powierzchni kory nerki. Aby uzyskana wartość wykazywała liniową zależność od wieku pacjenta autor poddawał ją transformacji kwadratowej.

Drugą metodą stosowaną przez Katafuchi'ego był pomiar, w preparatach barwionych PAMS, pola powierzchni wewnątrz oryginalnej blaszki sprężystej wewnętrznej, oraz pola światła naczynia. Z tak uzyskanych danych autor cytowanej pracy obliczał Indeks Pogrubienia Blaszki Wewnętrznej (Index of Intimal Thickening IIT) jako:

$$IIT = \frac{S1-S2}{S1} * 100\%$$

gdzie

S1 - pole powierzchni wewnątrz oryginalnej blaszki sprężystej wewnętrznej

S2 - pole powierzchni przekroju światła naczynia

W publikacji Katafuchi'ego tętnice dzielono na kategorie małych i większych naczyń, przyjmując za granicę pomiędzy tymi grupami obecność więcej niż 3 warstw komórek mięśniowych w błonie środkowej; odpowiadało to średnicy zewnętrznej 120µm. Do oceny zmian naczyniowych w przebiegu choroby Bergera autor ten posłużył się także tak prostymi parametrami jak obliczanie odsetka pola przekroju kory nerki zajęty przez drobne (poniżej 60 µm średnicy zewnętrznej) naczynia czy liczbę przekrojów naczyń na jednostkę powierzchni [84].

Główną wadą oryginalnych metod Katafuchiego i Sawai jest długotrwałość i duża pracochłonność wynikająca z konieczności wykonania mikrofotografii i ręcznego wprowadzania obrysów anatomicznych składników ściany tętnicy. Może to owocować pojawieniem się błędów trywialnych, a także przekreśla zastosowania w rutynowej pracy diagnostycznej.

Gulmann i współpracownicy [64] badali naczynia za pomocą mikroskopii elektronowej i stereometrii klasycznej. Metodą liczenia punktów uzyskiwali odsetek powierzchni zajęty w obrębie błony środkowej przez substancję pozakomórkową. Autorzy ci obliczali też standaryzowaną do średnicy naczynia ilość substancji pozakomórkowej błony środkowej oraz średnicę światła naczynia.

W niniejszej pracy zaadoptowano sposoby opisane przez Tracy'ego, Sawai i Katafuchiego. Usprawnienia dotyczyły zastosowania automatycznej analizy obrazu do wykrywania obrysu blaszek elastycznych ściany i światła naczynia co pozwoliło na znaczne zmniejszenie pracochłonności. Ponadto stworzono indeksy dotyczące błony środkowej analogiczne do wskaźników określających w metodach Sawai i Katafuchiego pogrubienie błony wewnętrznej. Miało to na celu określenie ewentualnych zmian także w obrębie błony środkowej.

Występujące w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek zmiany w tętnicach nerkowych drobnego kalibru, znane pod ogólną nazwą "*arteriolosclerosis*" mają dwie zasadnicze postaci:

szkliweńie tętniczek i tętnic końcowych oraz fibroplazja błony wewnętrznej drobnych tętnic. Obie postaci zmian w naczyniach pozakłębuszkowych nerki powinny być rozpatrywane osobno, ponieważ, odmienny wydaje się być związek z chorobami nerek a także ich rola w rokowaniu.

Jednym z objawów kłębuszkowych zapaleń nerek jest nadciśnienie tętnicze. Należy ono także do typowych i częstych powikłań przewlekłej niewydolności nerek, niezależnie od jej przyczyny. Patogeneza nadciśnienia w schyłkowej niewydolności nerek jest prawdopodobnie złożona i niejednorodna. Pacjenci różnią się odpowiedzią na próby korekty nadciśnienia przez redukcję przyjmowanych płynów i stosowanie inhibitorów konwertazy angiotenzyny. Głównymi przyczynami tego zjawiska są: wzrost objętości przestrzeni pozakomórkowej, zwiększona lub niewłaściwa odpowiedź układu renina-angiotenzyna i nadczynność układu współczulnego. Jednym ze skutków działania angiotenzyny II jest indukowanie rozrostu mięśniówki gładkiej naczyń, utrwalające nadciśnienie. W związku z tym według niektórych badaczy miejscowe oddziaływanie angiotenzyny może być odpowiedzialne za pojawianie się zmian naczyniowych w przebiegu glomerulopatii [143, 146]. Stężenie tlenu azotu, jak wynika z modeli doświadczalnych, wzrasta w zapalnych chorobach nerek, jak kłębuszkowe zapalenia, natomiast spada w stanach przewlekłego ubytku masy nerki, jak ablacja mięszu lub stwardnienie kłębuszków. NB, tlenek azotu ma być też bezpośrednim mediatorem uszkodzenia kanalików w cukrzycy. Nadciśnienie powoduje wzrost ekspresji kanałów wapniowych sterowanych jonami potasu w obrębie komórek mięśniówki naczyniowej. Taki efekt utrzymuje się także po zniesieniu naprężenia wywoływanego nadciśnieniem działającym na ścianę naczynia [110].

Nadciśnienie tętnicze ma być istotnym czynnikiem powodującym nieodwracalne uszkodzenie nerki w przebiegu przewlekłych chorób nerek. Faktycznie, nefropatie naczyniowe stanowią istotną przyczynę schyłkowej niewydolności nerek. Nadciśnienie tętnicze jest także w części odpowiedzialne za progresję zmian w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek. I tak na przykład w glomerulopatii błoniastej Wehrmann i współpracownicy stwierdzili, że chorzy z nadciśnieniem tętniczym mają istotnie gorsze rokowanie co do utrzymania czynności nerek [193]. W modelach wieloczynnikowych różnice wartości ciśnienia tętniczego krwi mają tłumaczyć 1/3 zmienności szybkości progresji niewydolności nerek. Wartość ciśnienia rozkurczowego, ze względu na dość stały w cyklu serca przepływ przez nerkę, ma być ważniejsza dla czynności nerki niż ciśnienia skurczowego. Jednak niektóre wyniki badań doświadczalnych bywają zaskakujące; na przykład Wenzel i współpracownicy stwierdzili, że nadciśnienie tętnicze nie zmienia przebiegu ostrego zapalenia kłębuszkowego indukowanego surowicą antytymocytarną [194].

Mechanizmy uszkodzenia nerki przez nadciśnienie tętnicze nie są całkowicie wyjaśnione, ale uważa się, że może odbywać się to na dwu drogach. Po pierwsze wysokie ciśnienie tętnicze ma przenosić się, wobec upośledzenia autoregulacji, w obręb kłębuszków nerkowych, doprowadzając do sklerotyzacji. Czynnikiem współsprawczym ma być powiększenie kłębuszków nerkowych. Po drugie działanie uszkodzające wysokiego ciśnienia tętniczego na naczynia pozakłębuszkowe może wywoływać niedokrwienie nefronów i w konsekwencji ich uszkodzenie [76,, 112, 146, 185].

Gonzalo i współpracownicy [60] badali współzależność nadciśnienia i progresji niewydolności nerek w przebiegu długotrwałych kłębuszkowych zapaleń nerek. Stwierdzili, że nadciśnienie jest jedynym z parametrów klinicznych o istotnym znaczeniu prognostycznym i w dużym stopniu oddziałuje na rozwój niewydolności nerek. Efekty oddziaływania rodzaju schorzenia podstawowego i nadciśnienia miały być raczej multiplikatywne niż addytywne. Co ciekawe, w tej pracy nie stwierdzono, aby poziom białkomoczu wpływał na rokowanie.

Analiza współzależności pomiędzy wynikami badań klinicznych a czynnością nerki nie należy do tematu niniejszej pracy, jednak na podstawie zgromadzonego materiału własnego mogłem stwierdzić, że nadciśnienie tętnicze należy do istotnych czynników warunkujących rozwój przewlekłej niewydolności nerek.

Tracy i współpracownicy badali zmiany w naczyniach pozakłębuszkowych a także wpływ na nie rozmaitych czynników. W swoich publikacjach zespół ten korzystał z materiału sekcyjnego. W pierwszym rzędzie autorzy oceniali zmiany w naczyniach nerek osób zmarłych w wyniku następstw choroby wieńcowej oraz w grupach porównawczych, w których zgon miał inne przyczyny. Prace tego zespołu dotyczyły głównie oceny pogrubienia blaszki wewnętrznej w naczyniach o średnicy 80 do 300 μ m. Autorzy stwierdzili, że zarówno zmiany szkliste jak i fibroplazja błony zewnętrznej wiążą się z wiekiem chorych, poziomem ciśnienia tętniczego i obecnością cukrzycy, natomiast jedynie zmiany szkliste wykazują związek z poziomem cholesterolu i obecnością choroby wieńcowej. U pacjentów zmarłych z powodu przewlekłych chorób nerek dominowała fibroplazja. Autorzy doszli do wniosku, że naczynia te należy grupować w dwie kategorie: o średnicy od 80 do 150 μ m i od 150 do 300 μ m. Zmiany w drobniejszych naczyniach wykazywały znamienne korelacje z wartościami ciśnienia tętniczego krwi, podczas gdy zmiany w większych zależały raczej od wieku pacjentów. Dla grupy naczyń drobniejszych, różnica wieku o rok oznaczała przyrost grubości błony wewnętrznej 0,11% w stosunku do średnicy naczynia. Wzrost średniego ciśnienia tętniczego krwi o 1 mm słupa rtęci oznaczał przyrost grubości błony wewnętrznej o 0,2% średnicy naczynia, a więc był 'równoważny' 2 latom. Dla naczyń większych, roczne różnice wieku oznaczały wzrost grubości

blony wewnętrznej o 0,15% średnicy naczynia. Podobny wzrost grubości błony wewnętrznej oznaczał przyrost średniego ciśnienia tętniczego krwi o 1mm słu pa rtęci. Całkowita grubość ściany naczynia nie wykazywała, w przeciwieństwie do grubości *neointimy*, tak wyraźnego związku z ciśnieniem tętniczym krwi. Z innych badanych czynników, zespół Tracy'ego nie stwierdził, aby niewydolność krążenia, stosowanie leczenia przeciwnadciśnieniowego lub preparatów naparstnicy wpływały znacząco na stosunek zmian naczyniowych do ciśnienia tętniczego i wieku. Także obecność cukrzycy nie wpływała na obecność pogrubienia błony wewnętrznej. U chorych na cukrzycę występowało natomiast znacznie większe niż w innych wypadkach szkliwienie tętniczek o średnicy poniżej 80 μ m. Tracy stwierdził, że wzrost grubości błony wewnętrznej w naczyniach o średnicy powyżej 150 μ m o ponad 15% średnicy naczynia wiąże się z bardzo wysokim ryzykiem śmierci z powodu chorób układu krążenia. Co ciekawe, zmiany w naczyniach wykazywały silny związek statystyczny z poziomem ciśnienia tętniczego w okresie poprzedzającym zgon chorego. Według Tracy'ego zmiany naczyniowe w nerce pozwalają wręcz na ocenę nieznanego poziomu ciśnienia tętniczego. Autor ten uważa, że zmiany tętnicach nerkowych są istotną przyczyną, a nie skutkiem nadciśnienia. Tracy rozpatrywał także kwestię, które ze zmian naczyniowych wiążą się z występowaniem włóknienia kłębuszków i podścieliska. Posługując się materiałem pobranym w czasie sekcji sądowo-lekarskich stwierdził istnienie związków pomiędzy bliznowaceniem nerki a fibroplazją błony wewnętrznej tętnic. Nie zauważył natomiast istotnych związków pomiędzy cechami stwardnienia nerek a zmianami szklistymi w drobnych naczyniach. Zmiany szkliste, chociaż powszechnie uważane za istotne cechy naczyniopochodnego uszkodzenia nerki, są przez cytowanego autora uważane za nie mające związku z rozwojem bliznowacenia. Włóknienie podścieliska i kłębuszków nie wykazywało też niezależnego od zmian w naczyniach związku z poziomem ciśnienia tętniczego. W materiale tego autora szkliwienie tętniczek nie wykazuje związku z wiekiem, a korelacja z ciśnieniem tętniczym, choć istotna statystycznie, jest słabsza niż w wypadku fibroplazji większych naczyń [185, 186, 187 188, 189, 190].

Katafuchi i współpracownicy [82] badali zmiany naczyniowe i ich korelacje patokliniczne w materiale pierwotnego nadciśnienia. Stwierdzili, że stopień włóknienia kłębuszków i podścieliska koreluje ze zgrubieniem błony wewnętrznej małych (poniżej 120 μ m zewnętrznej średnicy) tętnic. Autorzy nie stwierdzili natomiast takiego związku w wypadku większych tętnic. Brak było związku między zgrubieniem błony wewnętrznej małych i większych tętnic. Zmiany szkliste w naczyniach wykazywały korelację ze stopniem włóknienia kłębuszków, natomiast nie wykazywały istotnego związku z zaawansowaniem zmian w podścielisku. Zmiany w błonie wewnętrznej drobnych naczyń wiązały się z wiekiem, ciśnieniem skurczowym i okresem trwania

nadciśnienia. Zmiany w dużych naczyniach wykazywały związki głównie z wiekiem chorych, podczas gdy zmiany szkliste w drobnych naczyniach wiązały się z poziomem ciśnienia skurczowego i rozkurczowego oraz z długością trwania choroby. Zmiany w drobnych naczyniach nie wykazywały natomiast związku z wiekiem chorych. Poziom kreatyniny wykazywał korelację ze zmianami w drobnych tętnicach, ale nie ze zmianami w większych tętnicach. Obecność zmian szklanych w tętniczkach nie wykazywała natomiast związku z poziomem kreatyniny.

Ilościowa ocena zmian naczyniowych w przebiegu pierwotnych chorób nerek nie była często podejmowana. Szklwienie tętniczek opisywane jest w modelu 5/6 nefrektomii, natomiast w tym modelu nie stwierdza się zgrubienia błony wewnętrznej naczynia [171]. We wczesnej pracy Risdona [145] stwierdzono w kłębuszkowych zapaleniach nerek korelację wielkości pogrubienia błony wewnętrznej naczynia ze stopniem zaniku kanalików. Zmiany szkliste w tętniczkach wiązały się z zaawansowaniem zmian kłębuszkowych; inne związki nie były istotne statystycznie. W materiale Tracy'ego w chorobach nerek, takich jak przewlekłe zapalenie odmiedniczkowe, czy kłębuszkowe zapalenia nerek, a także w nadciśnieniu złośliwym występowało większe pogrubienia błony wewnętrznej naczynia niż można było przewidywać na podstawie ciśnienia tętniczego i wieku. Nefropatie stanowiły więc dodatkowy czynnik wpływający na zmiany w naczyniach. Katafuchi i współpracownicy [84] stwierdził, że w chorobie Bergera ilość przekrojów naczyń w obrębie kory nerki jest wyższa niż w grupie kontrolnej. Autor tłumaczy to zawikłanym przebiegiem tych naczyń. Wyniki te zachowywały ważność także przy ograniczeniu materiału do przypadków bez nadciśnienia tętniczego i z niewielką jedynie sklerotyzacją kłębuszków. Ponadto w cytowanej pracy występowała znamienna statystycznie, dodatnia korelacja pomiędzy pogrubieniem ściany w drobnych naczyniach, a sklerotyzacją kłębuszków. Co ciekawe, nie stwierdzono wyraźnych związków pomiędzy zmianami w naczyniach a wiekiem pacjenta bądź wartościami ciśnienia tętniczego krwi. W związku z tym autorzy pracy spekulują, że niejasny czynnik powoduje uszkodzenie naczyń. Postuluje się tu oddziaływanie hormonów, miejscowo czynnych mediatorów lub zwiększone ciśnienie tętnicze krwi w obrębie nerki. Natomiast stwierdzono, że w przebiegu nefropatii IgA reakcje związane z odkładaniem kompleksów immunologicznych w obrębie naczyń wydają się nie mieć istotnego znaczenia w uszkodzeniu nerek [209]. Może mieć to związek z rolą interakcji pomiędzy IgA a swoistym Fc receptorem w patogenezie tej jednostki chorobowej. Lee i Koh wśród zidentyfikowanych czynników wpływających niekorzystnie na rokowanie w glomerulopatii błoniastej wymieniają zmiany typu szklwienia ściany naczynia w drobnych tętnicach [98]. Podobne zmiany naczyniowe powstające w przebiegu kolagenoz mają

być skutkiem między innymi nadciśnienia tętniczego, reakcji immunologicznych związanych z odkładaniem kompleksów lub zmian związanych z wiekiem [162]. W toczeniu rumieniowatym trzewnym zmiany naczyniowe, takie jak depozyty immunologiczne, zakrzepy w świetle, mają wpływać niekorzystnie na rokowanie. Zmiany takie wiążą się jednak raczej z pierwotnym zajęciem naczyń w tej chorobie.

Na podstawie przedstawionego przeglądu literatury wydaje się, że kwestia związku poszczególnych zmian naczyniowych ze zmianami w obrębie kłębuszków, kanalików nerkowych i podścieliska jest złożona i wymaga dalszych badań. Związki takie wydają się różnić w zależności od choroby podstawowej; jednak nawet w odniesieniu do poszczególnych jednostek chorobowych wyniki różnych autorów bywają odmienne. Przyczynami tego stanu rzeczy może być stosowanie różnej metodyki, a także różnice pomiędzy badanymi populacjami, także uwarunkowane etnicznie. Na przykład w pracy korzystającej równoległe z materiału zbieranego w Stanach Zjednoczonych, Meksyku i Japonii Tracy stwierdził występowanie istotnych różnic pomiędzy badanymi populacjami [189]. Szczególnie w wypadku pierwotnych kłębuszkowych chorób nerek sprawa genezy i rokowniczego znaczenia zmian stwierdzanych w naczyniach pozakłębuszkowych pozostaje niedostatecznie zbadana.

We własnym materiale stwierdziłem obecność silnej dodatniej korelacji pomiędzy wiekiem pacjenta a wszystkimi badanymi wskaźnikami pogrubienia błony wewnętrznej naczynia. Przy zastosowaniu podziału mierzonych naczyń na kategorie stwierdziłem, że związek zgrubienia błony wewnętrznej z wiekiem najsilniejszy był dla naczyń większego kalibru (średnica powyżej 200 μ m). W tej grupie pojawiła się najwyższa wartość współczynnika korelacji $R=0,81$ dla związku wieku z indeksem pogrubienia błony wewnętrznej (IIT). Wyniki te są analogiczne jak otrzymane przez Katafuchiego i współpracowników, co pozwala na przyjęcie, że wiek jest głównym czynnikiem decydującym o pojawieniu się pogrubienia błony wewnętrznej większych naczyń także w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek.

Pogrubienie błony wewnętrznej tętnic wykazywało związek z poziomem dobowego białkomoczu. Korelacje z wartościami wskaźników wydolności nerek nie były natomiast istotne statystycznie. Wyniki te różnią się od otrzymanych przez Katafuciego. Różnica w parametrach rządzących poziomem wydolności nerek mogłaby wynikać z różnego materiału: pierwotnego nadciśnienia tętniczego w pracy Katafuciego wobec kłębuszkowych zapaleń nerek w niniejszym opracowaniu. Jednak co ciekawe, wskaźniki indeksowe pogrubienia błony wewnętrznej były istotnie wyższe u chorych którzy w okresie po wykonaniu biopsji zostali włączeni do programu przewlekłych dializ (RIT odpowiednio 0,26 i 0,47 w teście Mann-Whitneya $p=0,038$; IIT 43 i 64

$p=0,03$). Świadczy to o niekorzystnym rokowniczym znaczeniu pogrubienia błony wewnętrznej naczyń pozakłębuszkowych także w przebiegu glomerulopatii.

Tętnice większego kalibru (o średnicy powyżej $200\mu\text{m}$) wykazywały silną dodatnią korelację pomiędzy ciśnieniem tętniczym krwi, a grubością błony wewnętrznej. Natomiast grubość błony wewnętrznej naczyń mniejszego kalibru (o średnicy pomiędzy 100 a $200\mu\text{m}$) wykazywały słabą tendencję do ujemnej korelacji z wartością ciśnieniem tętniczym. Dla naczyń najdrobniejszych (średnica poniżej $100\mu\text{m}$) związki z ciśnieniem tętniczym krwi nie występowały. Wyniki te odbiegają od otrzymanych przez Katafuchiego i Tracy'ego. Różnice te mogą odzwierciedlać inne pochodzenie zmian w drobnych naczyniach w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek, stanowiących przedmiot niniejszej pracy.

W materiale własnym nie stwierdziłem istotnych statystycznie związków zmian w naczyniach tętniczych z odsetkiem zeszkliwiałych kłębuszków ani z zanikiem kanalików. Zwracały natomiast uwagę ujemne, istotne statystycznie korelacje pomiędzy parametrami opisującymi rozmiary kanalików dalszych, a grubością błony wewnętrznej. Związki takie były także obecne po podziale naczyń na kategorie według ich kalibru. Tak więc część otrzymanych korelacji pomiędzy zmianami naczyniowymi a innymi parametrami pozakłębuszkowymi różniła się od związków znanych z innych prac.

Podsumowanie wyników

W pracy przeanalizowano biopsje nerek pochodzące od 133 pacjentów. Przeprowadzono pomiary szeregu parametrów opisujących zmiany w obrębie podścieliska, kanalików oraz naczyń pozakłębuszkowych. Stwierdzono istnienie wysoce znamiennych statystycznie związków pomiędzy zmianami pozakłębuszkowymi a czynnością nerki w okresie w którym wykonywano biopsję, a także ryzykiem rozwoju przewlekłej niewydolności nerek.

- ♦ W przebiegu badanych glomerulopatii odsetek zwłókniałych kłębuszków jest znamienne wyższy niż w grupie kontrolnej. Odsetek ten wykazuje dodatnią, istotną statystycznie korelację z wiekiem pacjentów. Jest jednak znamienne wyższy, niż należałoby oczekiwać na podstawie wieku.
- ♦ W przebiegu glomerulopatii występuje wzrost względnej objętości podścieliska nerki. Objętość podścieliska nerki wykazuje dodatnią i istotną statystycznie korelację z wiekiem, chociaż siła związku nie jest duża. Objętość ta jest wyższa niż w grupie kontrolnej, a także wyższa niż można by oczekiwać biorąc pod uwagę jego zwiększanie się z wiekiem.
- ♦ Odsetek zwłókniałych kłębuszków i objętość podścieliska nerki wykazują istotną statystycznie, dodatnią korelację.
- ♦ Pola przekrojów kanalików bliższych jak również dalszych są znacząco niższe w przebiegu glomerulopatii niż w grupie kontrolnej.
- ♦ Względna objętość podścieliska nerki wykazuje ujemną, istotną statystycznie korelację z polami przekroju kanalików bliższych i dalszych.
- ♦ Grubość błony wewnętrznej tętnic obecnych w badanych biopsjach a także zaawansowanie szkliwienia drobnych naczyń wykazują silną, dodatnią korelację z wiekiem pacjenta.
- ♦ Zarówno odsetek zwłókniałych kłębuszków jak względna objętość kory nerki wiążą się ze stopniem upośledzenia funkcji nerki w chwili wykonania biopsji. Jednak związek w wypadku objętości podścieliska jest silniejszy i widoczny jest także przy zastosowaniu analizy wieloczynnikowej.
- ♦ Parametry czynnościowe nerki wykazują związek statystyczny z wiekiem pacjenta. Jednak wpływ ten może zależeć od związanych z wiekiem zmian naczyniowych.
- ♦ Niska względna objętość podścieliska kory nerki (mniejszy niż 20%), nie gwarantuje prawidłowej czynności narządu. W badanym materiale względna objętość na poziomie 10% lepiej oddzielał przypadki z prawidłową i nieprawidłową czynnością nerki. Tak więc nawet niewielki wzrost objętości podścieliska może wiązać się z upośledzeniem czynności nerki.
- ♦ Równomierne zwiększenie objętości podścieliska nerki w większym stopniu upośledza czynność tego narządu, niż zmiany ogniskowe.

- ♦ Odsetek objętości kory nerki zajętej przez podścielisko jest znamienne wyższy u chorych, którzy w późniejszym okresie wymagają zastosowania leczenia nerkozastępczego. Jest to najistotniejszy z czynników wpływających na ryzyko rozwoju przewlekłej niewydolności nerek.
- ♦ Półilościowa ocena włóknienia podścieliska nie wydaje się dobrze odzwierciedlać czynności nerki a jej wartość dla rokowania wydaje się być ograniczona.
- ♦ Odsetek zeszkliwiałych kłębuszków nie jest skutecznym wskaźnikiem rokowniczym w kłębuszkowych chorobach nerek.
- ♦ W glomerulopatii minimalnej nie stwierdza się istotnego wzrostu objętości podścieliska kory nerki, z wyjątkiem przypadków ze stwierdzoną w badaniu immunofluorescencyjnym obecnością złogów immunoglobulin na terenie kłębuszków. Brak istotnego wzrostu objętości podścieliska uzasadnia bardzo dobre rokowanie glomerulopatii minimalnej. Stosowanie przez niektórych autorów glomerulopatii minimalnej jako grupy kontrolnej przy badaniu zmian podścieliskowych wydaje się więc dopuszczalne.
- ♦ Przypadki o morfologii glomerulopatii minimalnej, lecz immunofluorescencyjnie wykazujące obecność immunoglobulin na terenie kłębuszków charakteryzują się wzrostem objętości podścieliska kory nerki, nie występującym w przypadkach typowych. Ponieważ także przebieg kliniczny w tych wypadkach, jak wynika z literatury, ma być mniej pomyślny, stanowi to argument na rzecz poglądu o odmienności tej grupy chorych.

Uzyskane wyniki potwierdziły znane z literatury istotne znaczenie zmian w obrębie podścieliska dla czynności nerki. W odróżnieniu od publikacji innych autorów rozpatrzono także szeroko kwestię zmian w obrębie kanalików nerkowych i naczyń pozakłębuszkowych, które to zagadnienie było dotychczas badane jedynie fragmentarycznie.

Wnioski

★Zmiany w obrębie podścieliska nerki są najważniejszymi morfologicznymi czynnikami rokowniczymi w przebiegu kłębuszkowych chorób nerek. Najważniejszym spośród tych parametrów jest względna objętość podścieliska kory nerki.

★Inne parametry pozakłębuszkowe mają mniejszy wpływ na czynność nerki i rokowanie w przebiegu kłębuszkowych chorób nerek.

★Półilościowa ocena zmian pozakłębuszkowych w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek ma znacznie niższą wartość od pomiarów wykonywanych metodami ściśle ilościowymi.

★Morfometria ukierunkowana na zmiany pozakłębuszkowe może być metodą użyteczną w określaniu rokowania u chorych na kłębuszkowe zapalenia nerek.

Streszczenie

Główne kategorie internistycznych chorób nerek to nefropatie naczyniowe, nefropatie podścieliskowo-kanalikowe i glomerulopatie. Taki podział może sugerować, że w wypadku kłębuszkowego zapalenia nerek kłębuszek jest wyłączną lokalizacją procesu chorobowego. Jednak procesy toczące się poza kłębuszkiem są niezwykle istotne dla rozwoju i utrzymywania się tych chorób. Co więcej zmiany pozakłębuszkowe są ważne dla określenia rokowania.

Kłębuszkowe zapalenia nerek należą do najczęstszych przyczyn przewlekłej niewydolności nerek. Rozwój niewydolności nerek na ich podłożu jest zarówno szybszy jak mniej przewidywalny niż w innych przewlekłych chorobach nerek. Różnorodność przebiegu jest widoczna zarówno pomiędzy różnymi glomerulopatiami, jak i w obrębie poszczególnych jednostek chorobowych. W związku z tym istnieje potrzeba możliwie dokładnego przewidywania rokowania w indywidualnych przypadkach. Jedną z potencjalnie użytecznych metod może być patologia ilościowa.

Ocena rokowania w kłębuszkowych zapaleniach nerek przeprowadzona na podstawie samych jedynie parametrów kłębuszkowych jest zawodna. Ocena ryzyka rozwoju przewlekłej niewydolności nerek może okazać się zbyt optymistyczna, a z nawet zaawansowane zmiany kłębuszkowe nie muszą się wiązać z pogorszeniem czynności nerki.

W przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek dochodzi do zwiększenia względnej objętości i włóknienia podścieliska nerki oraz do rozplemu miofibroblastów. Pojawiają się także nacieki zapalne o różnym składzie komórkowym. W obrębie kanalików dochodzi do zaniku. W tętnicach można stwierdzić do pogrubienia błony wewnętrznej, a w drobniejszych naczyniach do szkliwienia ściany. Zmiany pozakłębuszkowe, nie mając charakteru swoistego, tym były uważane za zjawisko marginalne.

Patogenezę zmian podścieliskowo-kanalikowych w przebiegu glomerulopatii można w uproszczeniu podsumować następująco: 1) pojawienie się w przesączu wysokich stężeń białka oraz cytokin pochodzących z kłębuszka powoduje aktywację komórki nabłonka kanalikowego; 2) w związku z oddziaływaniem komórek nabłonka kanalikowego w podścielisku pojawiają się komórki o fenotypie miofibroblasta. Efekt ten w części jest pośredni i zależy od czynności komórek nacieku zapalnego w obrębie śródmiąższu nerki; 3) zaktywowane komórki miofibroblastyczne produkują składniki substancji pozakomórkowej, co wyraża się stwierdzanym histologicznie zwiększeniem ilości podścieliska; 4) następuje zmniejszenie gęstości i pola przekroju kapilar okołokanalikowych, co prowadzi do upośledzenia czynności filtracyjnej nerki. Wspomniane mechanizmy powodują, że włóknienie podścieliska przebiega równoległe do wzrostu biochemicznych wskaźników niewydolności nerek. Wiąże się także ze

zwiększonym ryzykiem rozwoju przewlekłej niewydolności nerek. Większość autorów poprzestaje jednak na odniesieniu otrzymanych wartości morfometrycznych do aktualnej czynności nerki.

Celami pracy były: 1) zbadanie związków wyników pomiarów morfometrycznych z podstawowymi wynikami badań klinicznych wykonywanych w okresie przeprowadzenia biopsji, 2) określenie, które parametry morfometryczne wiążą się z niekorzystnym przebiegiem klinicznym choroby, 3) stworzenie, na bazie posiadanego systemu analizy obrazu, oprogramowania umożliwiającego pomiar zmian pozakłębuszkowych w biopsjach nerek.

Do przeprowadzenia pracy posłużyły biopsje nerek 133 pacjentów, diagnozowane w Katedrze Patomorfologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Wybrano wszystkie biopsje spełniające kryteria reprezentatywności, z wyłączeniem glomerulopatii wtórnych do chorób systemowych. Klasyfikację opartą na podziale opublikowanym pod auspicjami Światowej Organizacji Zdrowia przeprowadzono na podstawie badania w mikroskopie optycznym, mikroskopie fluorescencyjnym metodą immunofluorescencji bezpośredniej oraz w mikroskopie elektronowym. Podczas ponownej oceny materiału pólnościowo oznaczono takie parametry jak odsetek kłębuszków całkowicie zeszkliwiałych, stopień włóknienia mezangium zachowanych kłębuszków, stopień włóknienia podścieliska nerki, obecność i stopień zaniku kanalików. Grupę kontrolną stanowiły wycinki z niezmiennego mięszu nerek materiałów pochodzących z operacji guzów nerek a także przypadki sekcyjne w których nie stwierdzono zmian chorobowych w obrębie nerek.

Akwizycję, przetwarzanie obrazów oraz pomiary przeprowadzono z użyciem systemu cyfrowej analizy obrazu. Obrazy pochodziły z mikroskopu Zeiss Axioscop i kolorowej kamery CCD połączonej z kartą *frame grabber*, zainstalowaną w standartowym komputerze klasy PC. Oprogramowanie pracowało pod kontrolą systemu operacyjnego Microsoft Windows NT, składało się z programu analizy i przetwarzania obrazów AnalySIS (Soft Imaging System GmbH, Niemcy) oraz działających w środowisku AnalySIS własnych procedur napisanych w języku C.

Do najważniejszych parametrów ilościowych mierzonych w nerkach należy odsetek objętości kory zajętej przez podścielisko. Najczęściej stosowanym sposobem postępowania jest metoda liczenia punktów. Polega ona na rzutowaniu na oceniany obraz siatki składającej się ze znanej liczby punktów. Następnie liczony jest odsetek punktów które znajdują się w obrębie podścieliska nerki. Metoda ta stanowi estymator nieobciążony, a więc daje rzetelną ocenę frakcji objętości.

Pomiary kanalików nie są często wykonywane. Trudności w przeprowadzeniu pomiarów wynikają z konieczności wykonania pomiarów wydłużonej struktury przeciętej pod arbitralnym

kątem. Dodatkową trudnością jest zależność struktury i rozmiarów kanalika od sposobu utrwalenia materiału i wykonania preparatów. Także tutaj do oceny pola przekroju cytoplazmy kanalików i ich światła można posłużyć się metodą liczenia punktów.

Pomiary względnej objętości podścieliska i nacieków podścieliskowych, oraz pól przekroju kanalików wykonywano systematycznie, we wszystkich kolejnych polach widzenia obejmujących korową część nerki. W każdym polu widzenia za pomocą myszy komputera zaznaczano punkty siatki leżące odpowiednio w obrębie podścieliska, nacieków podścieliskowych, cytoplazmy i światła kanalików, a także przekroje kanalików nadających się do pomiarów. Po zakończeniu pomiarów program umieszczał w pliku wszystkie obliczone wartości wraz z numerem przypadku. Następnie za pomocą arkusza kalkulacyjnego sumowano dane z poszczególnych pól widzenia. Na tej podstawie obliczono: frakcje objętości kory zajętej przez podścielisko i nacieki zapalne, wariację tych frakcji pomiędzy poszczególnymi polami widzenia a także średnie wartości pola przekroju światła, komórek nabłonkowych oraz całego kanalika bliższego i dalszego.

Dla pomiarów parametrów naczyń tętnicznych posłużono się preparatami barwionymi na obecność włókien sprężystych metodą orceinową. Obrazy znalezionych naczyń, w powiększeniu stosownym do ich kalibru, wprowadzono do systemu komputerowego. Następnie interakcyjnie przeprowadzono pomiar liniowy średnicy światła oraz odległości pomiędzy śródbłonkiem a błoną sprężystą wewnętrzną i zewnętrzną w celu oceny grubości błony wewnętrznej i środkowej. Pomiary te wykonywane były trzykrotnie, w przybliżeniu wzdłuż najkrótszej osi przekroju naczynia. Następnie przeprowadzono automatyczne filtrowanie i progowanie obrazu, mające na celu znalezienie obrysu światła oraz zewnętrznych obrysów błony sprężystej wewnętrznej i zewnętrznej. W razie potrzeby wynik automatycznej segmentacji był korygowany przez operatora. Program zapisywał w pliku tekstowym numer przypadku, średnicę światła, grubość błony wewnętrznej i zewnętrznej naczynia, a także wyliczone wskaźniki indeksowe grubości błony wewnętrznej i środkowej. Zmiany w drobnych naczyniach oceniano w preparatach barwionych metodą paS. Znalezione naczynia zaliczano do czterech kategorii, w zależności od tego jaka część obwodu ściany naczynia była zmieniona szkliste. Indeks zmian szklistych stanowił stosunek sumy iloczynów liczby naczyń w poszczególnych klasach i numerów klas do ogólnej liczby naczyń.

Parametry kliniczne odzwierciedlające czynność nerki stanowiły poziomy kreatyniny i mocznika w osoczu krwi. Ponadto uwzględniono wartości białkomoczu dobowego i pomiary ciśnienia tętniczego krwi. W celu oceny wartości rokowniczej przeprowadzonych pomiarów, uzyskano dane o losach chorych w latach po przeprowadzeniu badania biopsyjnego. W części

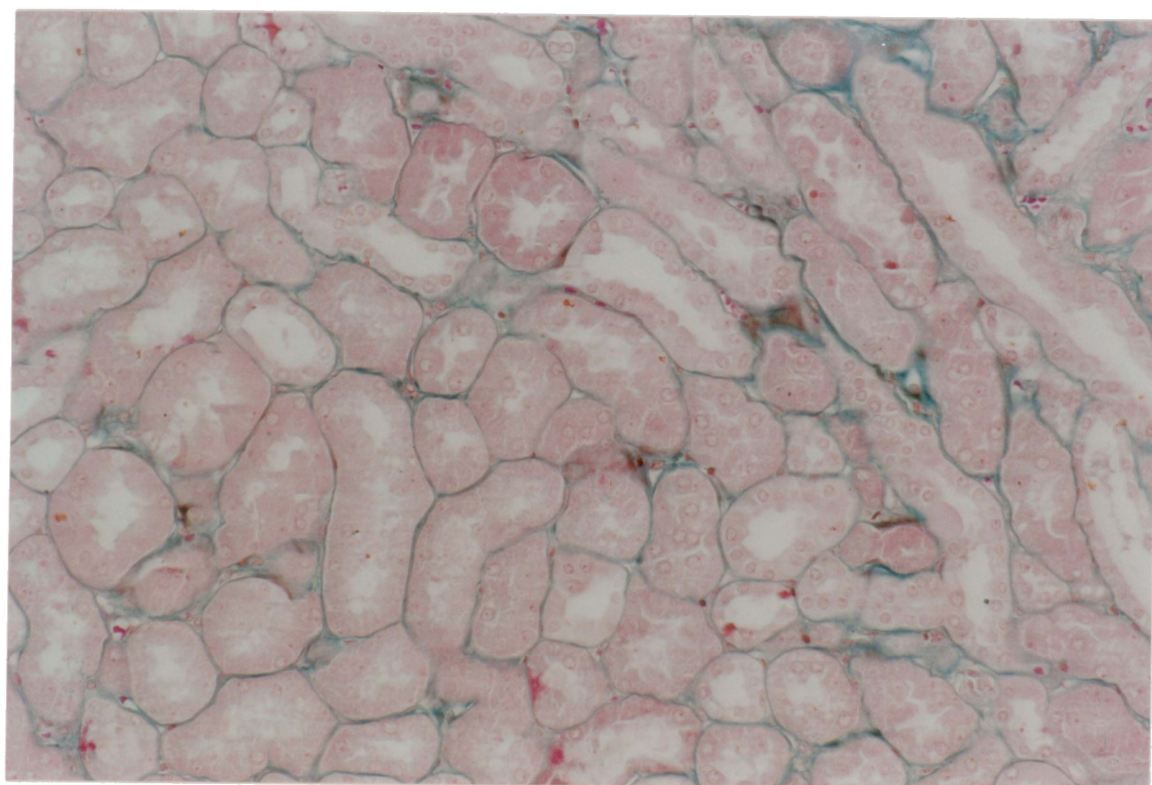
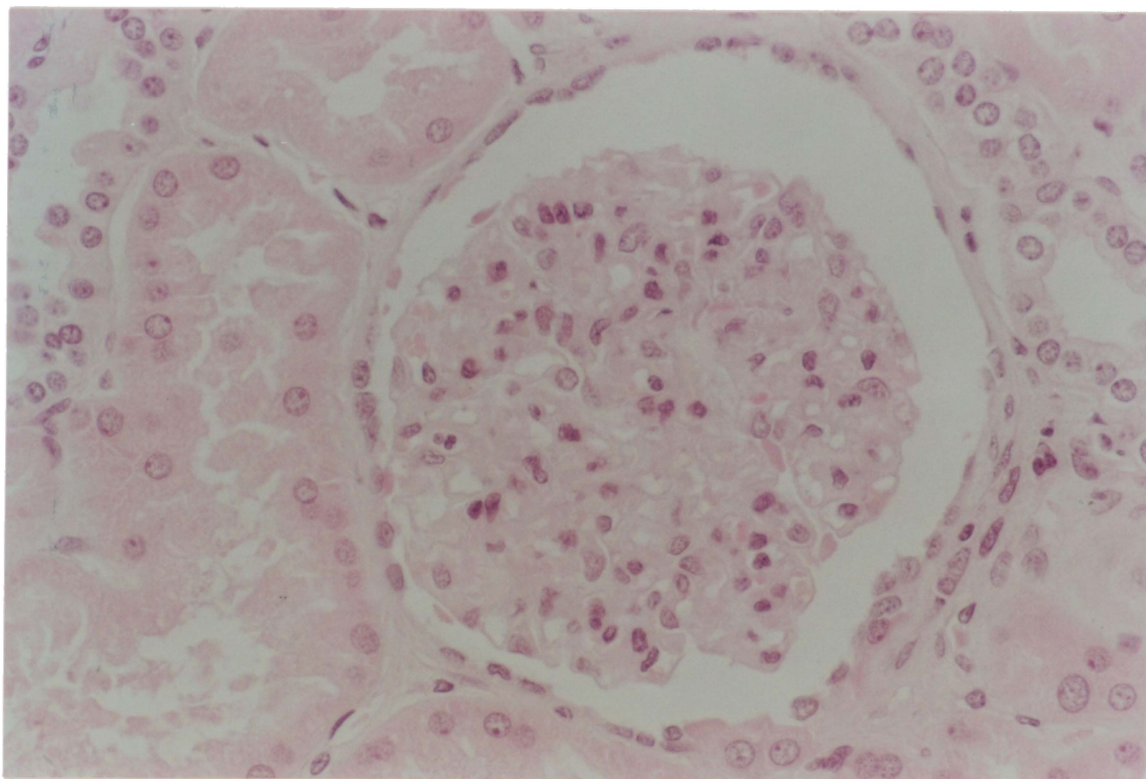
przypadków pacjenci poddawani są w chwili obecnej przewlekłym dializom lub otrzymali przeszczep nerki. W tych wypadkach odnotowano czas jaki upłynął pomiędzy wykonaniem biopsji nerki, a rozpoczęciem długotrwałego leczenia nerkozastępczego. Inni chorzy pozostają nadal w obserwacji nefrologicznej, bądź też z różnych przyczyn nie są już taką obserwacją objęci. W takich wypadkach odnotowano okres jaki upłynął pomiędzy wykonaniem biopsji nerki a ostatnią kontrolą jaką wykonywano u chorego.

Obliczenia statystyczne przeprowadzono za pomocą programu Statistica for Windows, (StatSoft Inc., USA). Do porównywania między sobą wartości zmiennych w badanych grupach posługiwano się przede wszystkim metodami nieparametrycznymi, jak testem U Mann-Whitneya, testem serii Walda- Wolfowitza, metodą analizy wariancji Kruskall- Wallisa. Związki pomiędzy zmiennymi oceniano za pomocą współczynników korelacji Pearsona oraz współczynników korelacji rang Spearmana i gamma. Dla oceny związków pomiędzy wieloma zmiennymi posłużono się metodą wielokrotnej regresji. Ponadto do oceny czynników wpływających na rokowanie zastosowano techniki analizy przeżycia, w szczególności model regresyjny Coxa, a także metodę analizy czynnikowej.

Stwierdzono, że w przebiegu glomerulopatii występuje wzrost odsetka objętości kory nerki zajętej przez podścielisko. Wartość tego parametru jest znamienne wyższa w grupie badanej niż w grupie kontrolnej. Odsetek objętości kory nerki zajętej przez podścielisko zależy od wieku pacjenta, jednak jego przyrost z wiekiem w badanych przypadkach glomerulopatii jest szybszy niż oczekiwany. Wartość odsetka objętości kory nerki zajętej przez podścielisko wykazuje korelację ze stopniem upośledzenia funkcji nerki w chwili wykonania biopsji. Objętość kory nerki jest także znamienne wyższa u chorych którzy w późniejszym okresie wymagali zastosowania leczenia nerkozastępczego, niż u tych u których przebieg kliniczny był pomyślny. W szczególności w przebiegu glomerulopatii minimalnej nie stwierdzono istotnego wzrostu tego parametru, z wyjątkiem przypadków w których w badaniu immunofluorescencyjnym obecne były na terenie kłębuszków złogi immunoglobulin.

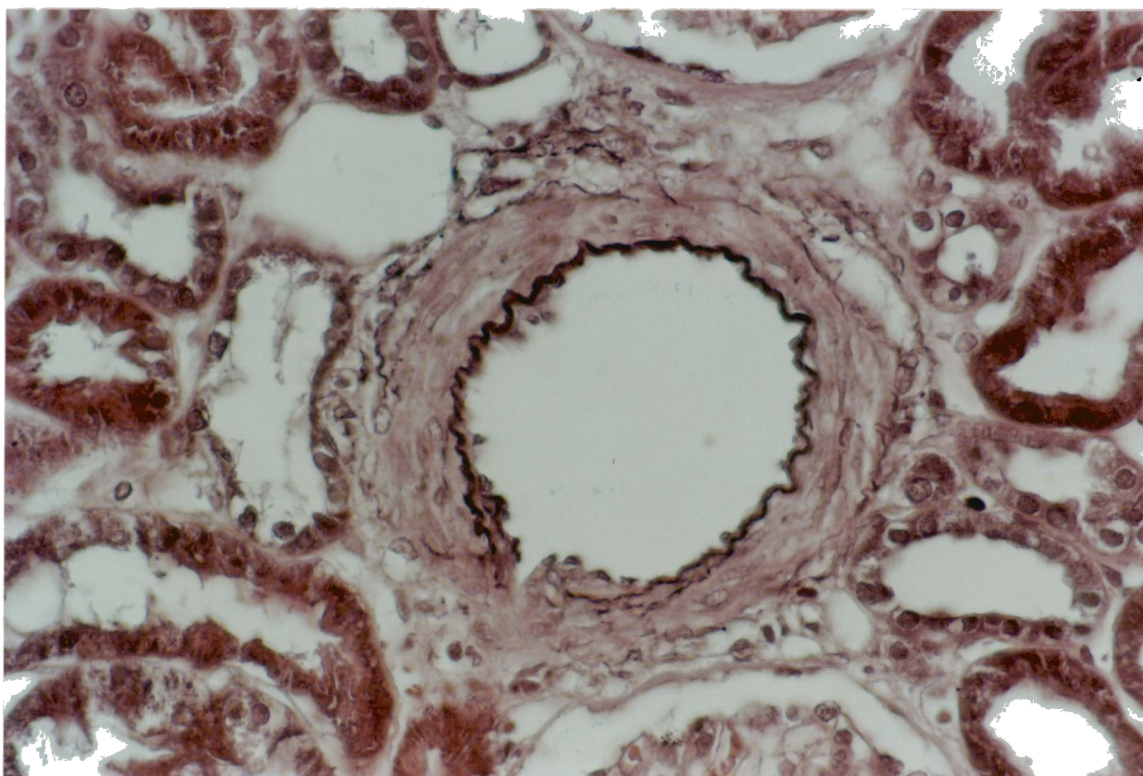
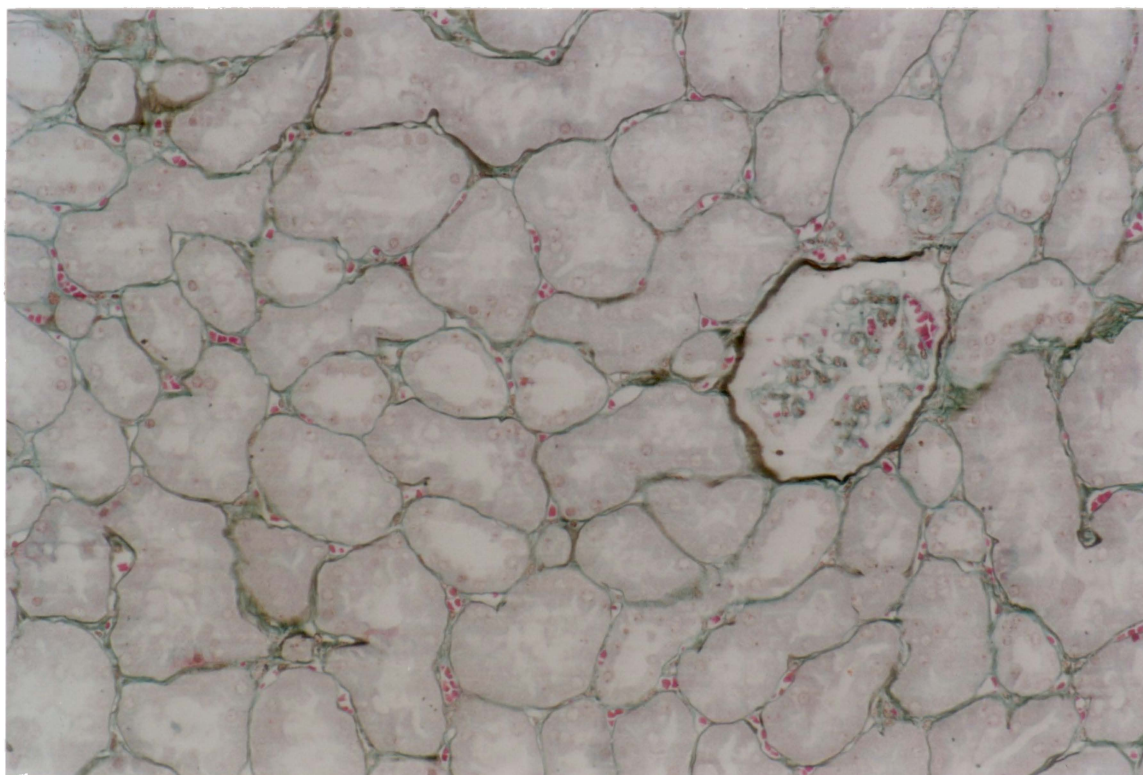
Innymi parametrami morfometrycznymi wiążącymi się z niekorzystnym przebiegiem klinicznym były grubość błony wewnętrznej tętnic, wskaźniki RIT i IIT pogrubienia błony wewnętrznej tętnic, a w mniejszym stopniu także odsetek zwłókniałych kłębuszków.

Fotografie



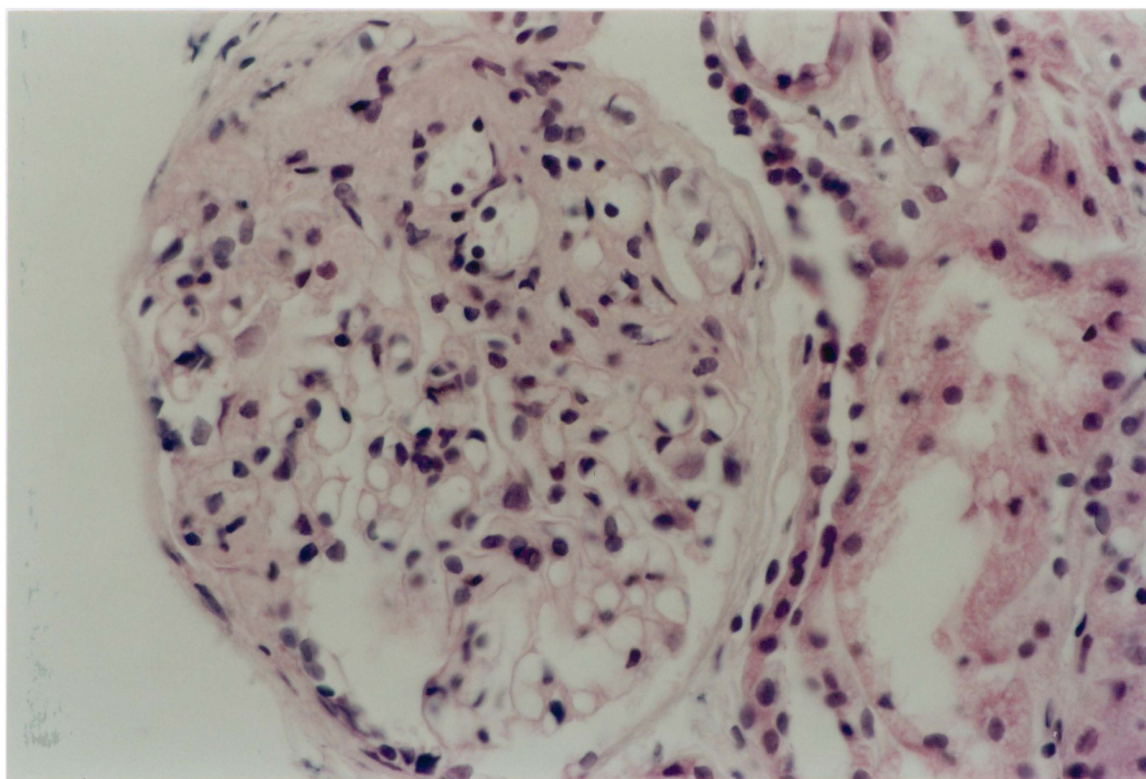
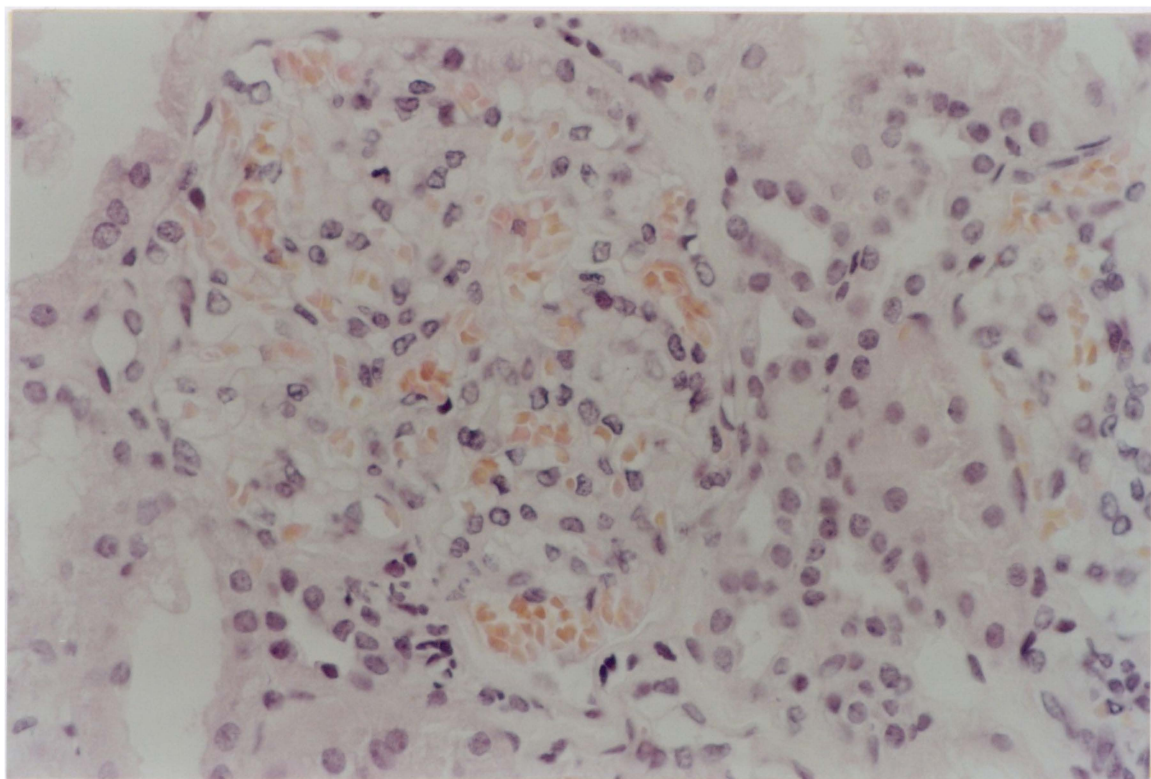
Fot. 1. Niezmieniony kłębuszek nerkowy. 1380573 - grupa kontrolna, Hematoksylina - eozyna, powiększenie 412x.

Fot. 2. Podścielisko nerki w warunkach prawidłowych. 1390699 - grupa kontrolna. PAMS. powiększenie 104x.



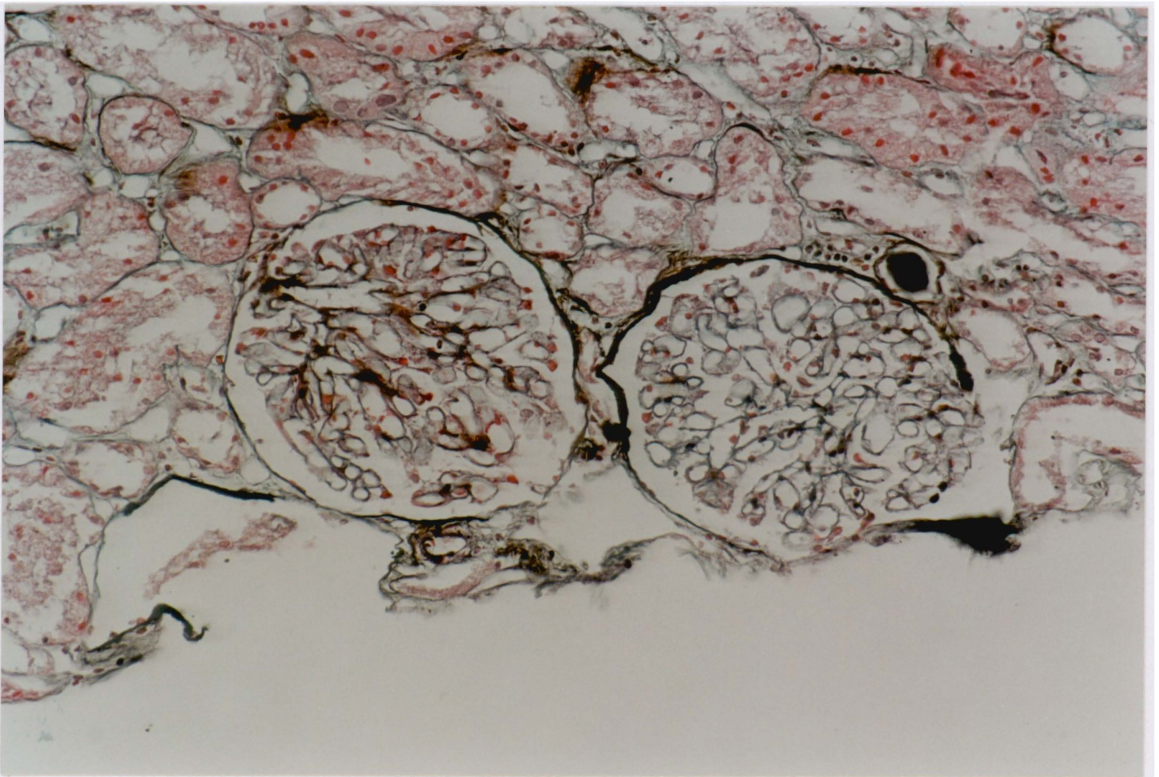
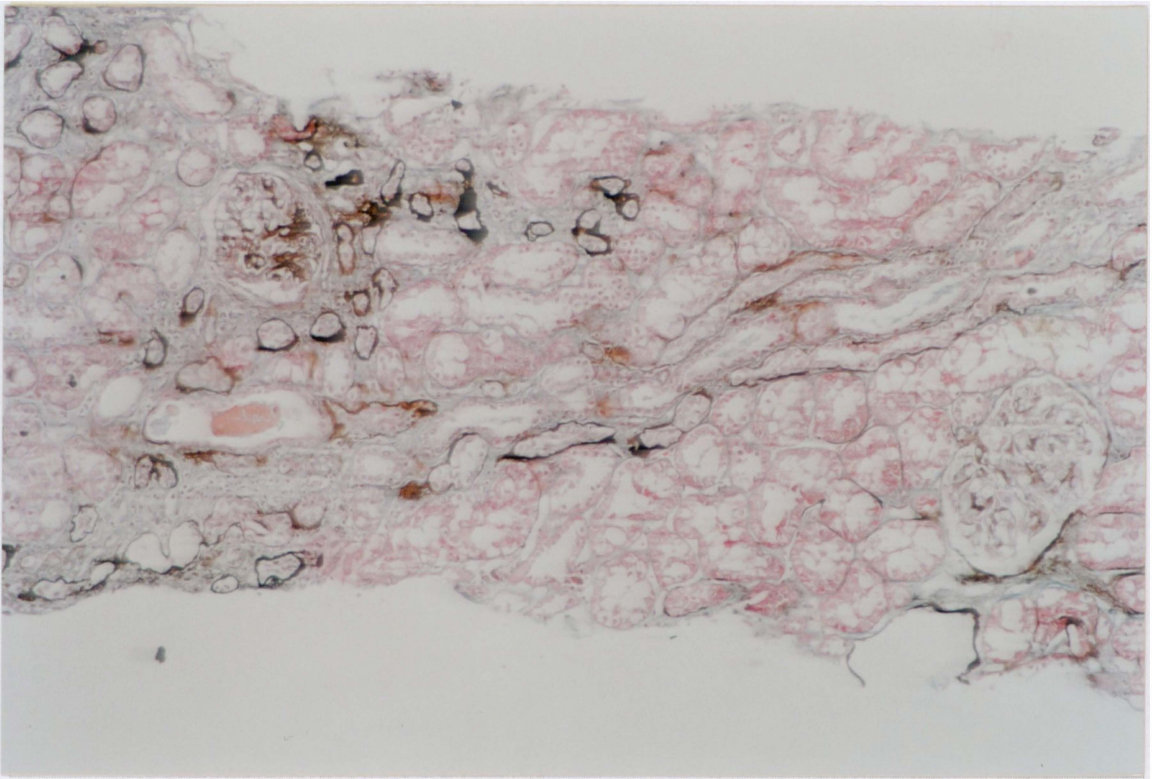
Fot. 3. Niezmieniona nerka. 1388857. PAMS powiększenie 206x.

Fot. 4. Niezmienione naczynie pozakłębuszkowe. 1343564. orceina powiększenie 412x.



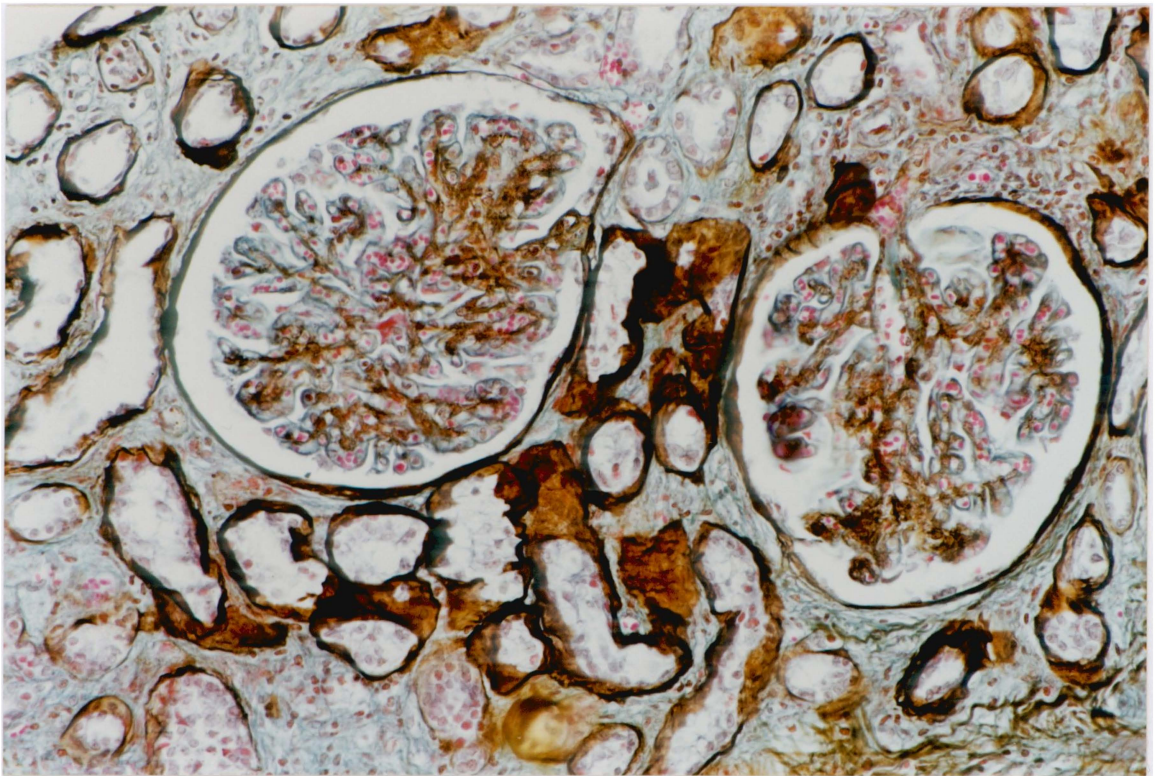
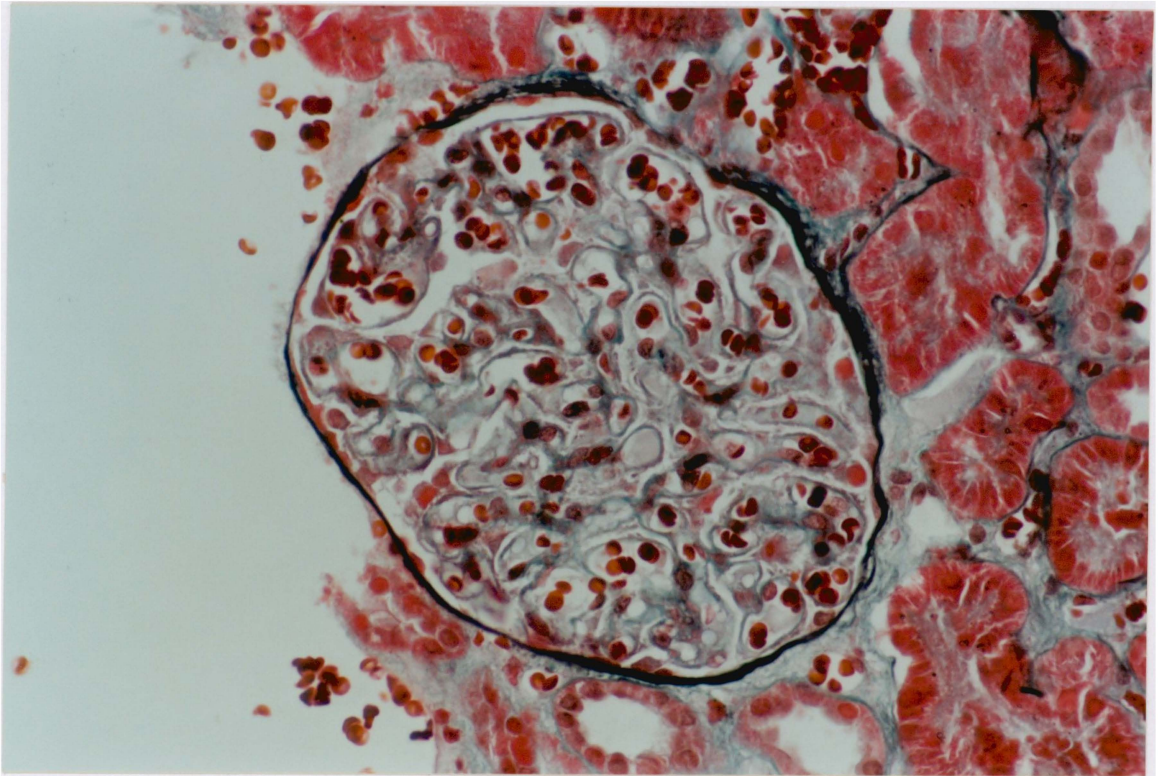
Fot. 5. Glomerulopatia minimalna. 1292637 hematoksylina i eozyna, powiększenie 412x.

Fot. 6. Ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków. 1292658 hematoksylina i eozyna, powiększenie 412x.



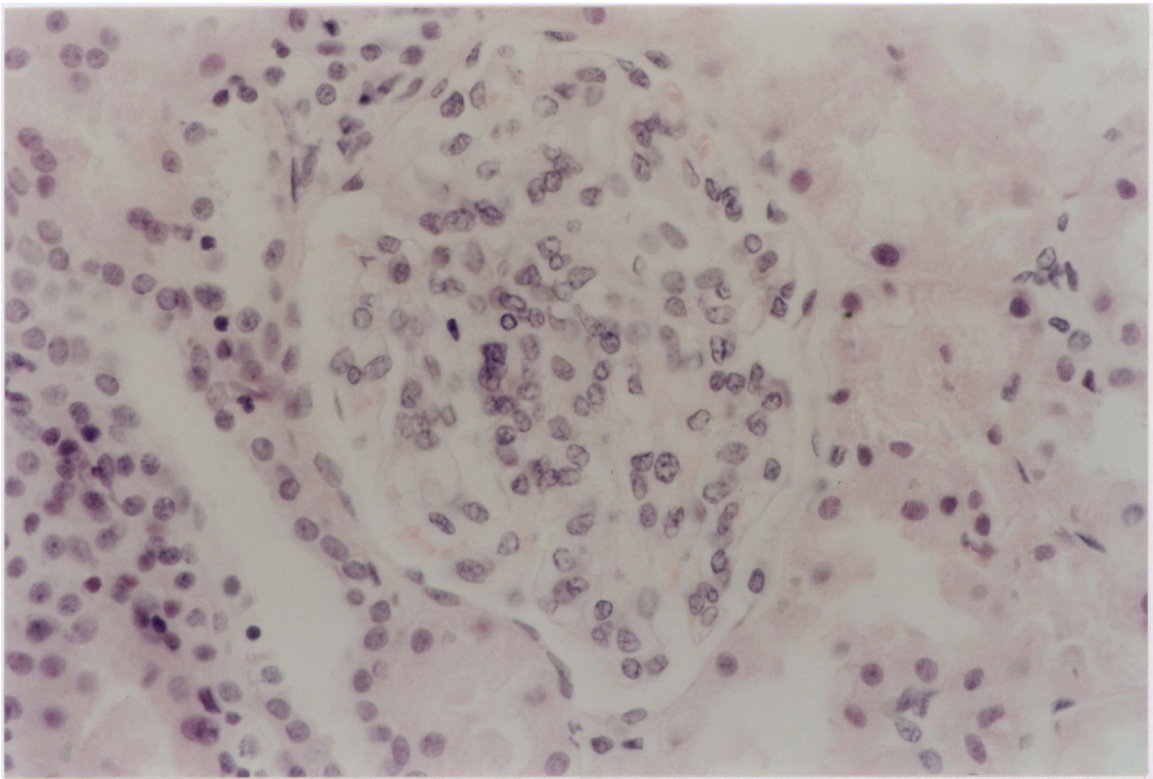
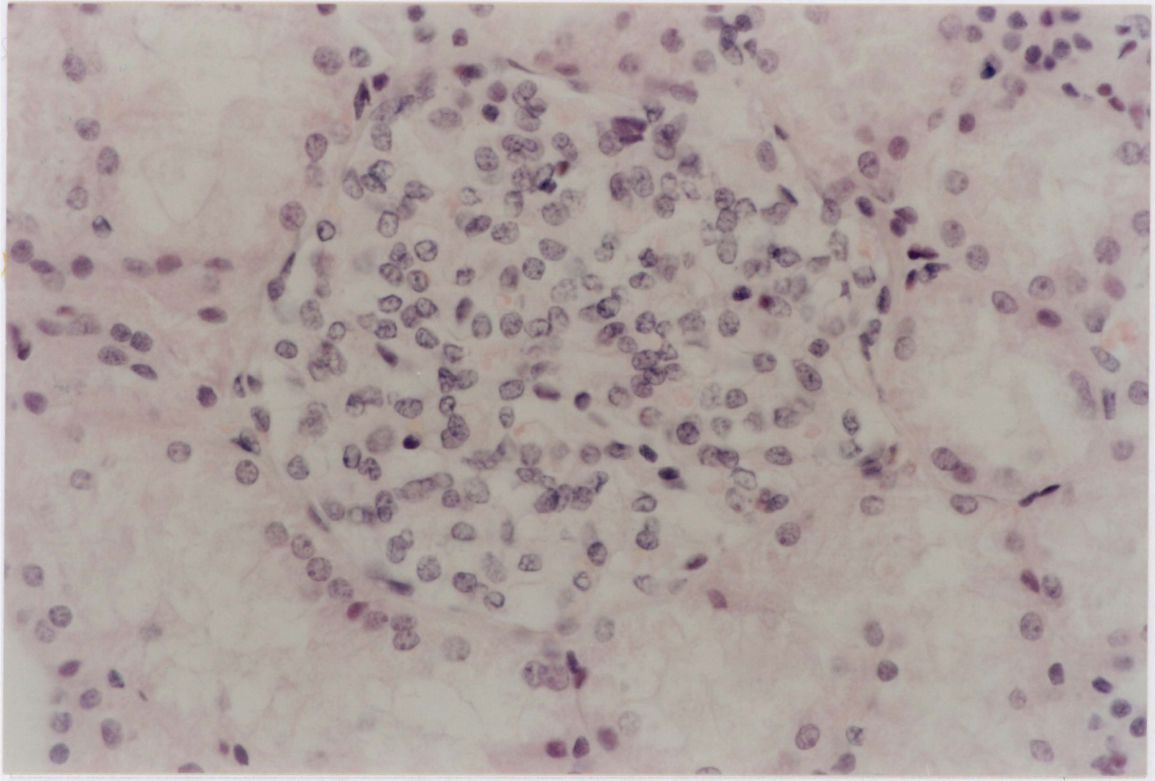
Fot. 7. Ogniskowe i segmentalne stwardnienie kłębuszków. Obszary zaniku kanalików z pogrubieniem błon podstawnych. 1293253 PAMS powiększenie 104x.

Fot. 8. Glomerulopatia błoniasta. Podrysowanie ścian kapilar, brak cech bliznowacenia nerki 1280446 PAMS powiększenie 206x.



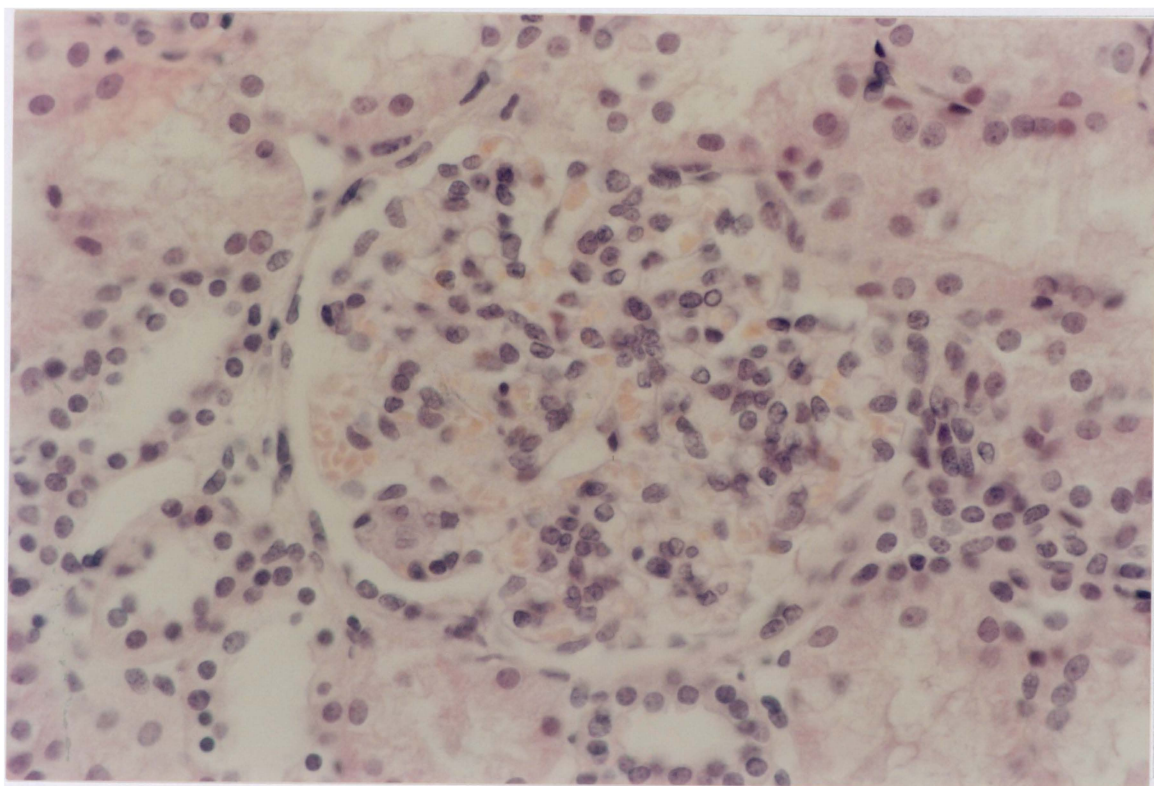
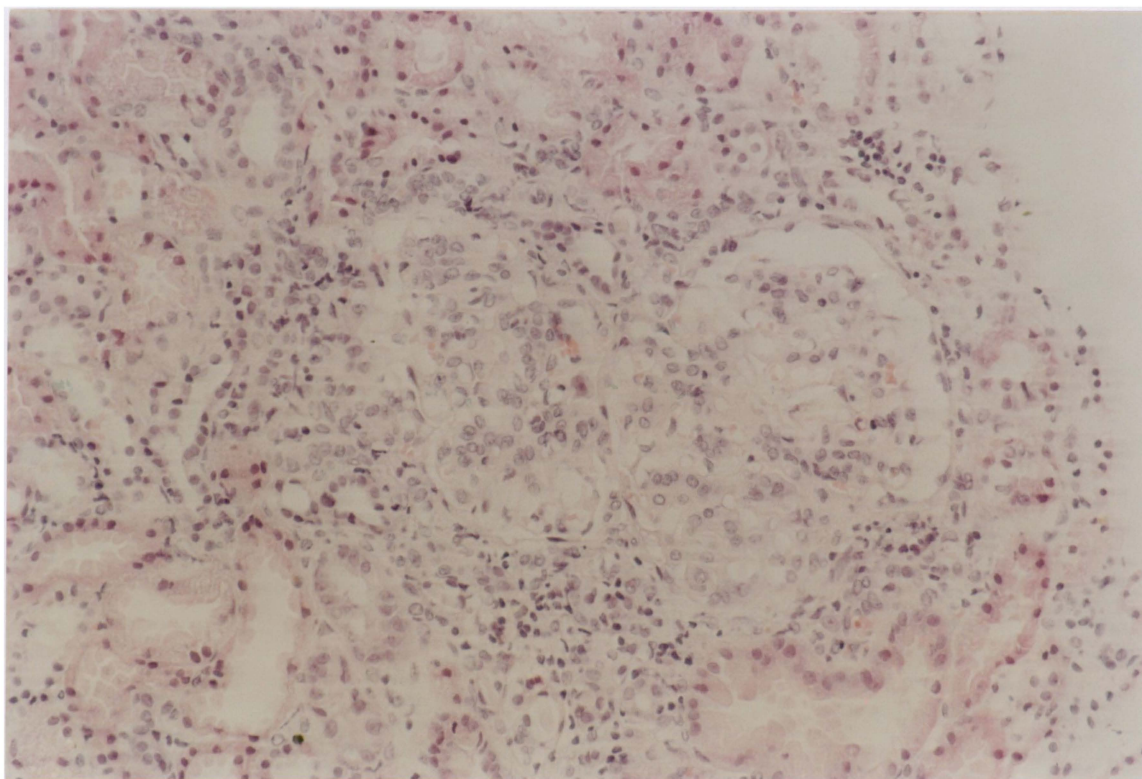
Fot. 9. Glomerulopatia błoniasta. 1232102 PAMS powiększenie 412x.

Fot. 10. Glomerulopatia błoniasta z nasilonymi cechami w bliznowacenia. 1329515 PAMS powiększenie 206x.



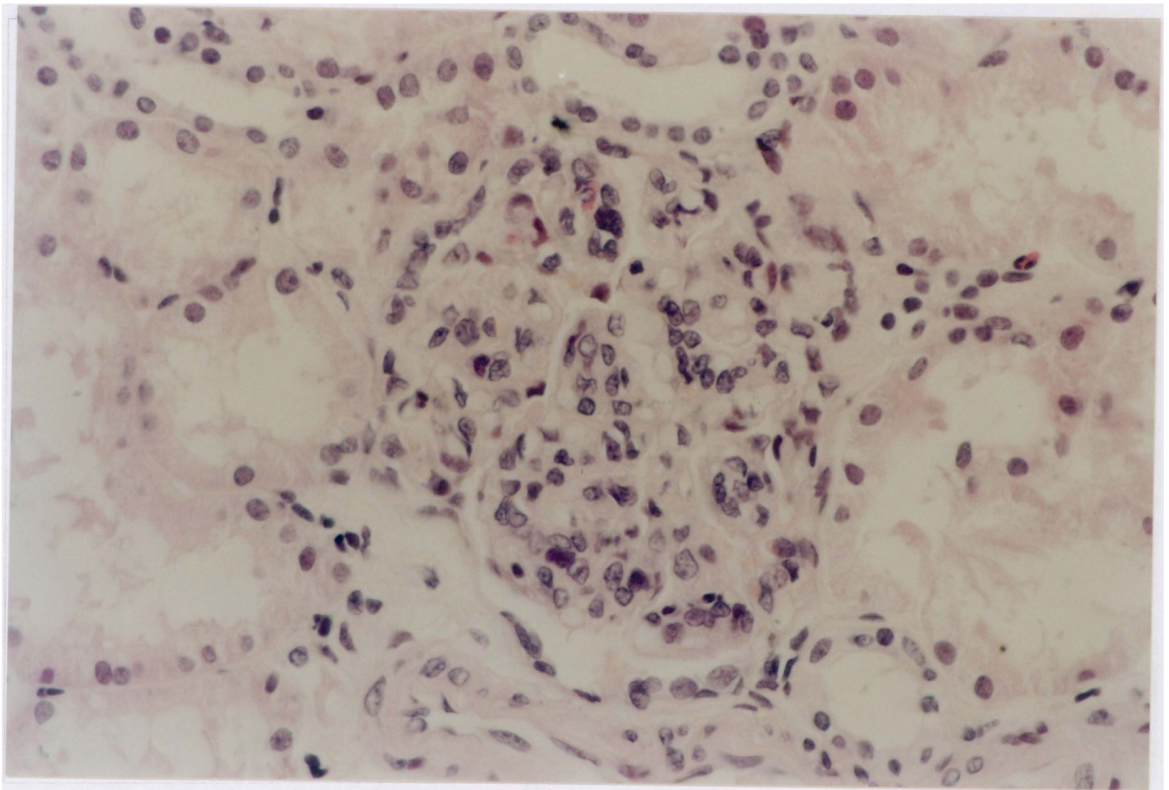
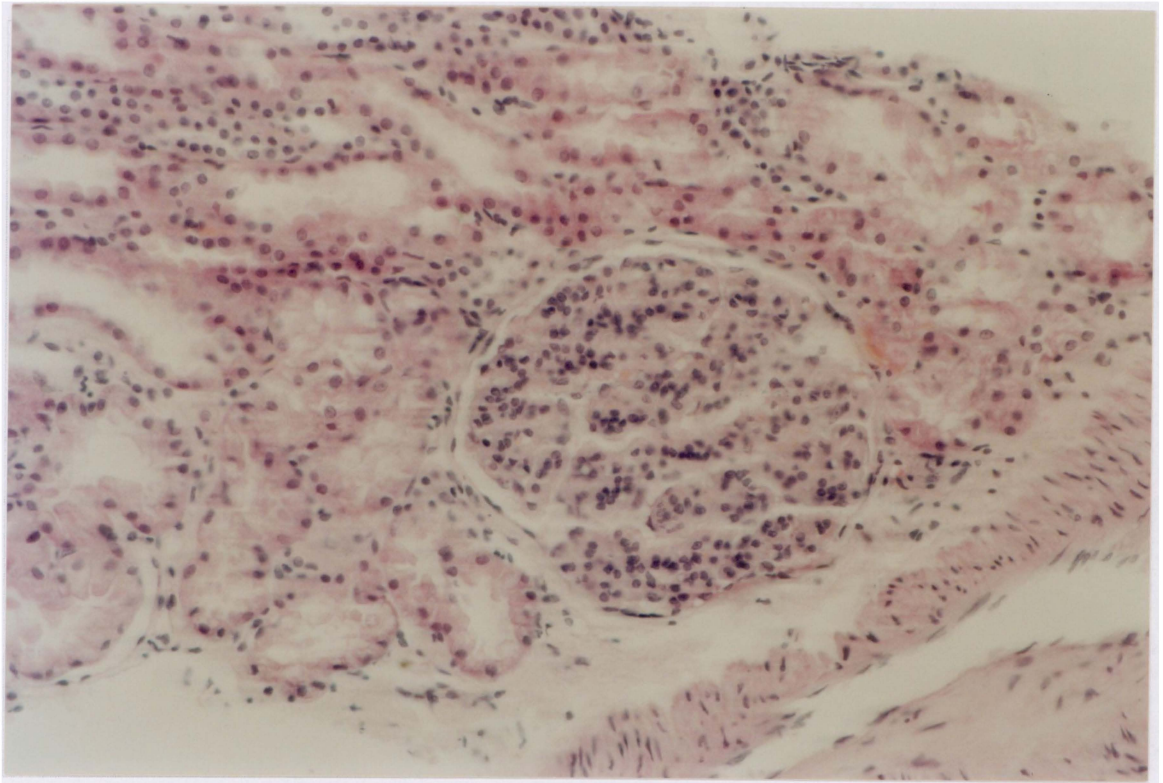
Fot. 11. Glomerulopatia mezangialna. 1332537 hematoksylina i eozyna, powiększenie 412x.

Fot. 12. Glomerulopatia mezangialna. 1332537 hematoksylina i eozyna, powiększenie 412x.



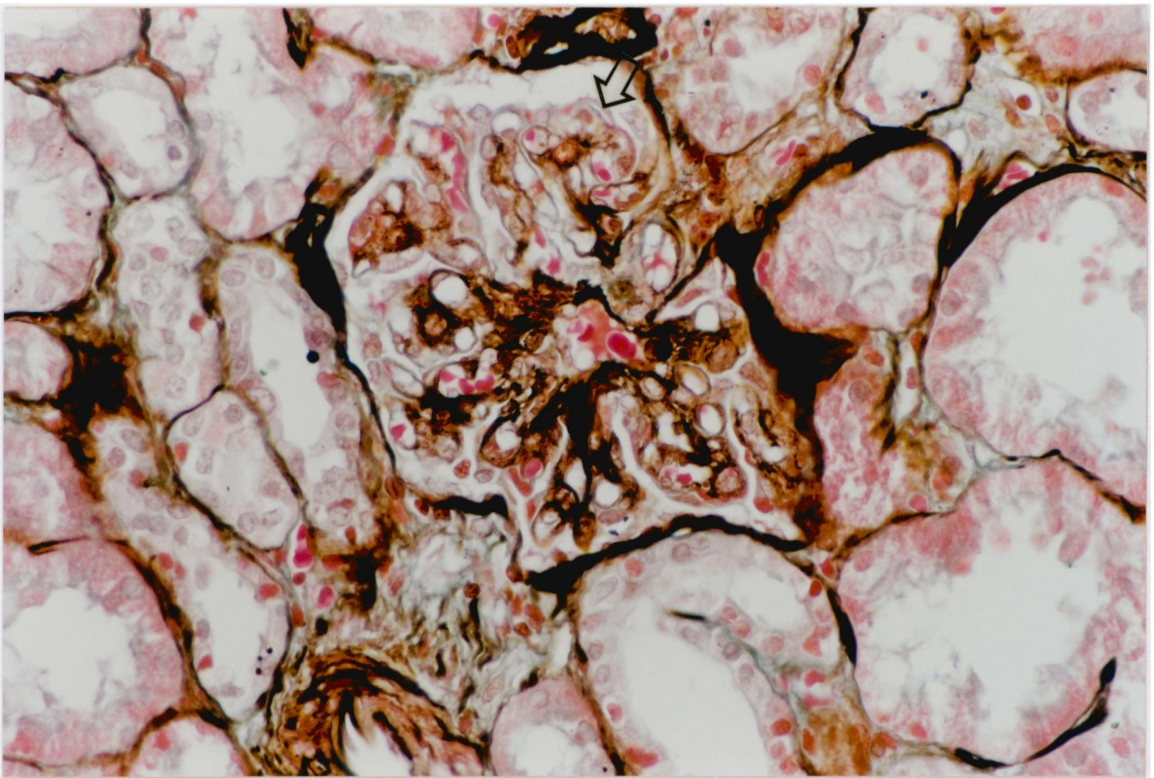
Fot. 13. Choroba Bergera 1329217 hematoksylina i eozyna, powiększenie 206x.

Fot. 14. Choroba Bergera 1329630 hematoksylina i eozyna, powiększenie 412x.

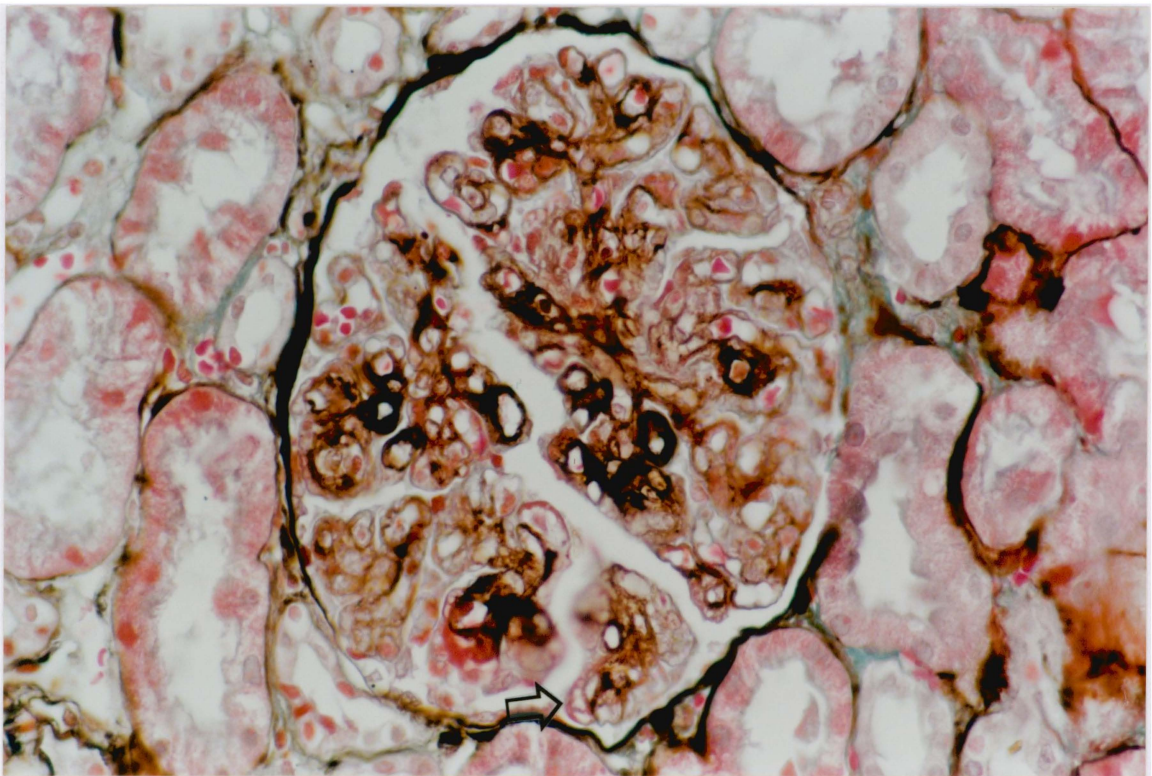


Fot. 15. Błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek typu I. Rozplem komórek mezangium; podkreślenie lobulacji. 1285082 hematoksylina i eozyna, powiększenie 206x.

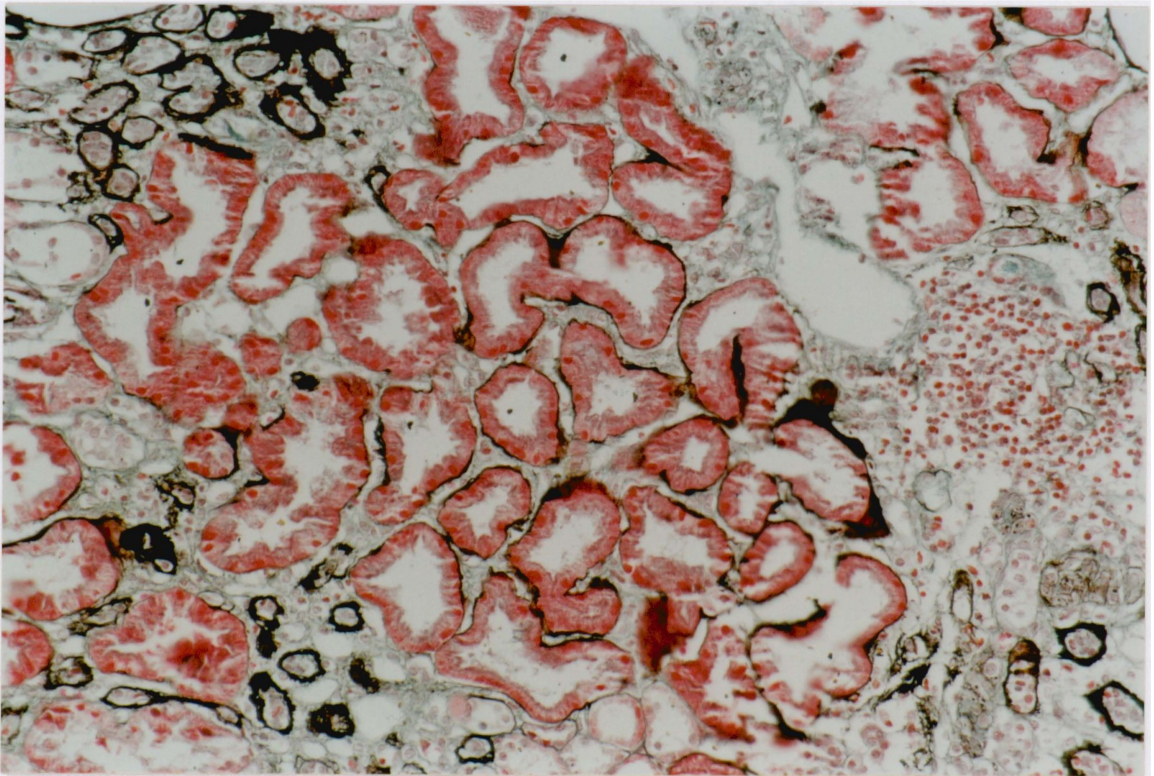
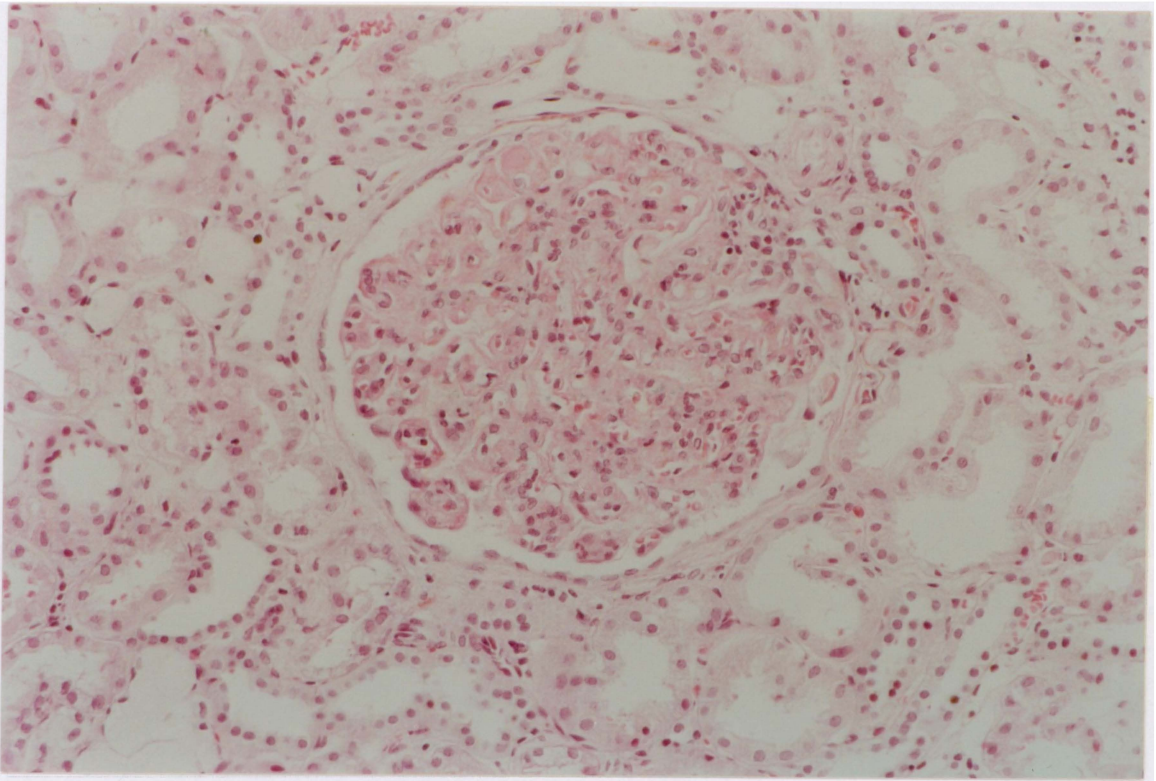
Fot. 16. Błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek typu I. 1280368 hematoksylina i eozyna, powiększenie 412x



Fot. 17. Błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek typu I. Nieregularne pogrubienie ścian kapilar, cechy sklerotyzacji. Podwójne okonturowanie ścian kapilar (strzałka). 1280368. PAMS powiększenie 412x

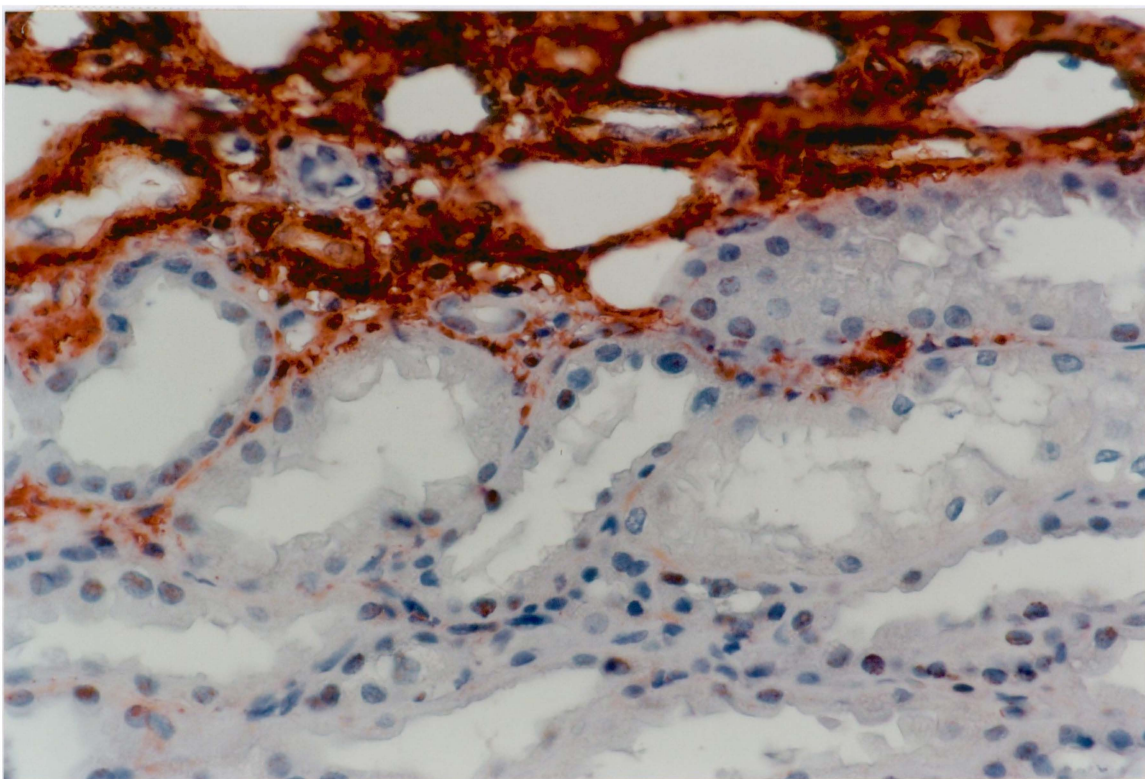
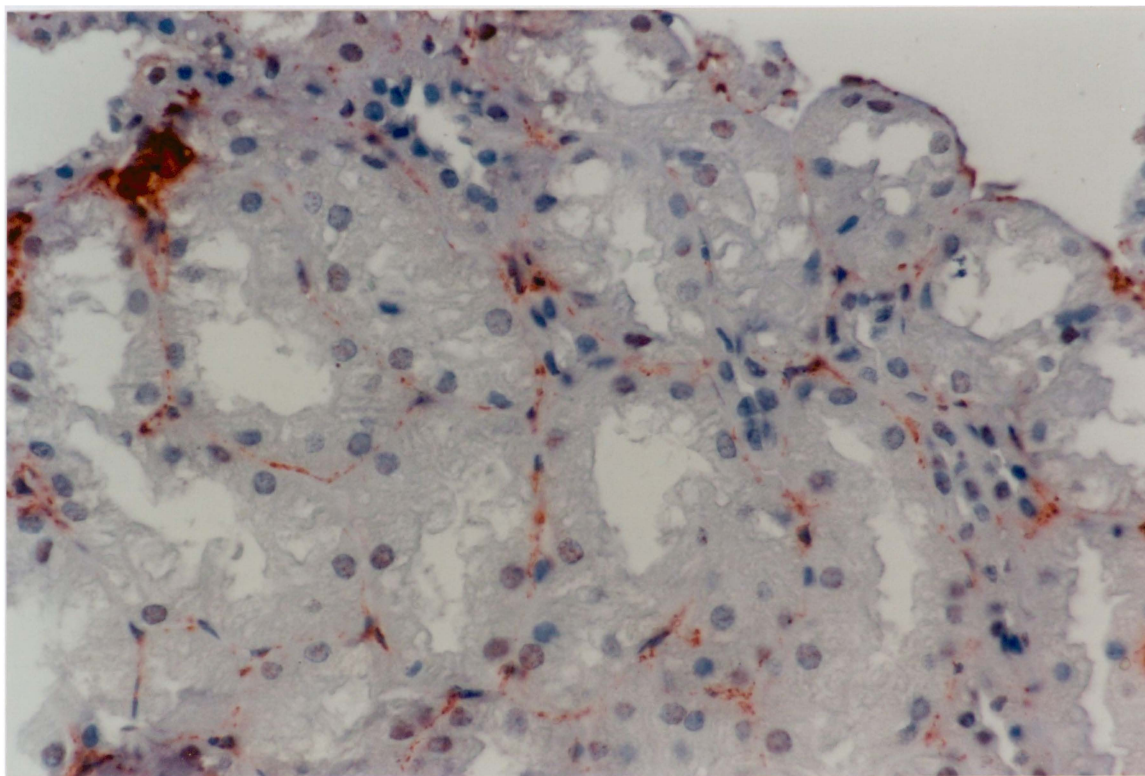


Fot. 18. Błoniasto-rozplemowe kłębuszkowe zapalenie nerek typu I. Podwójne okonturowanie ścian kapilar (strzałka). 1280368 PAMS powiększenie 412x



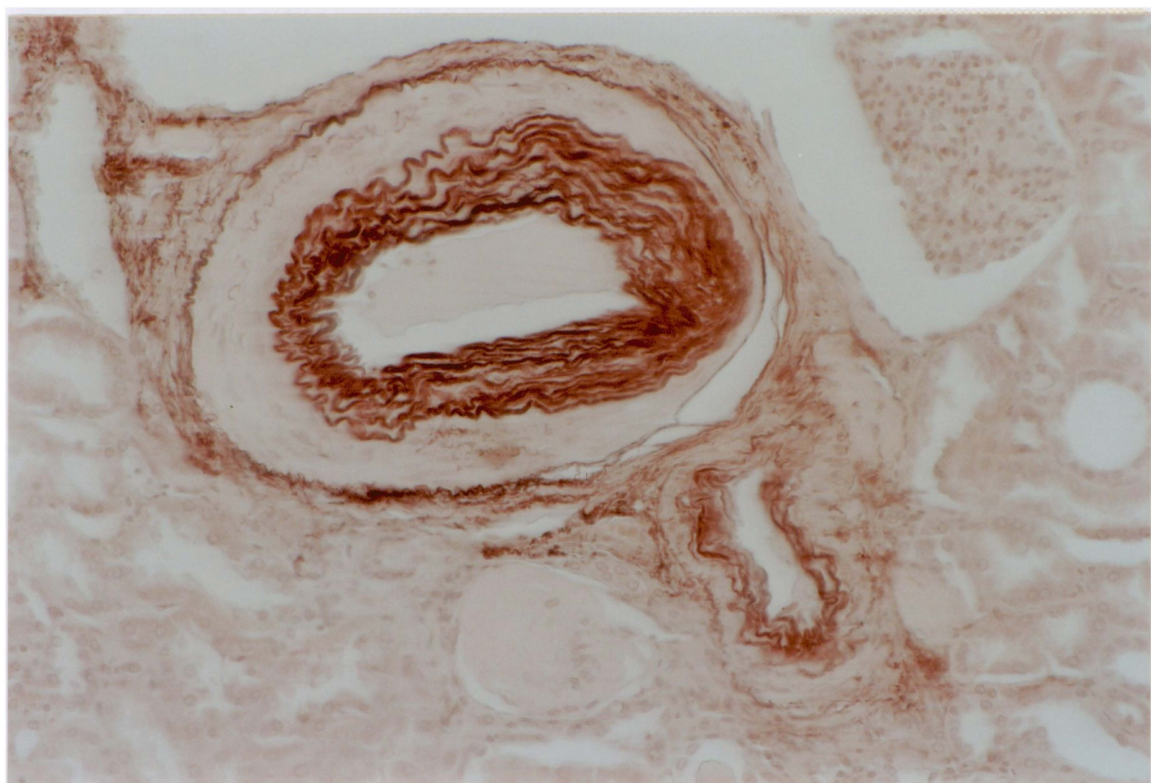
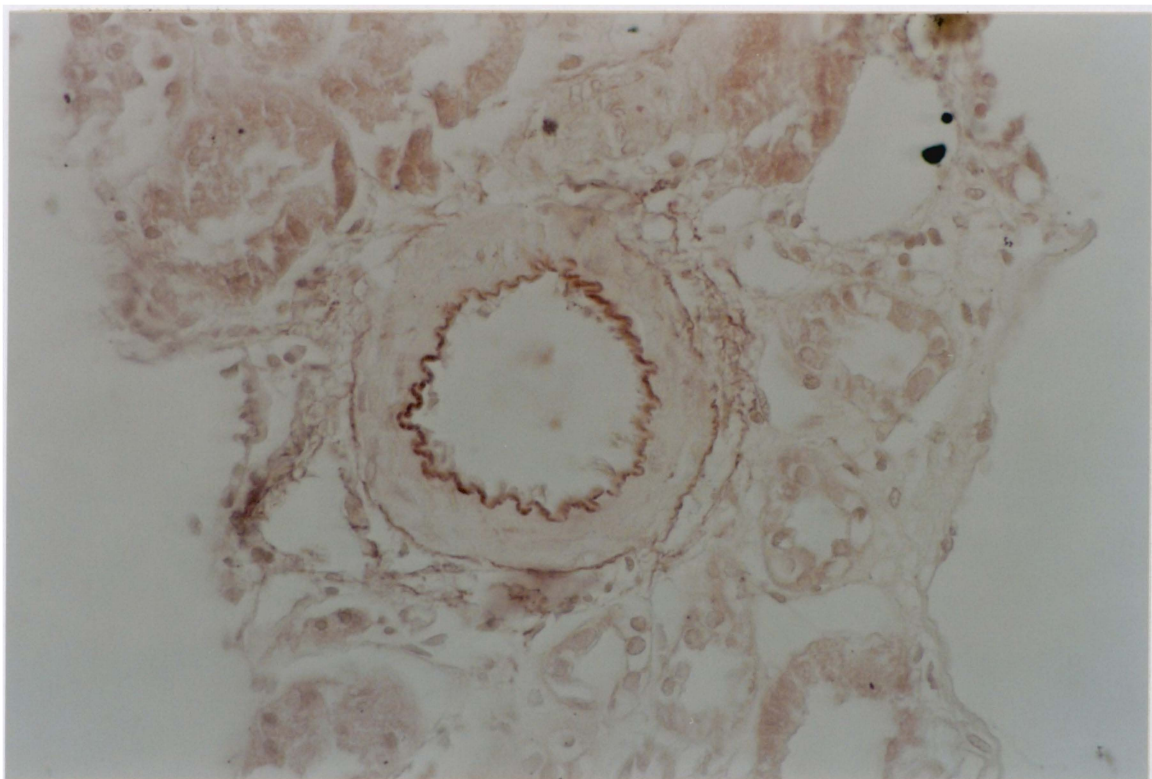
Fot. 19. Dense deposits disease. 1120521. Hematoksyлина i eozyna. Powiększenie 206x.

Fot. 20. Zwiększenie względnej objętości śródmiąższu połączone z zanikiem kanalików. 1329217. PAMS. Powiększenie 104x



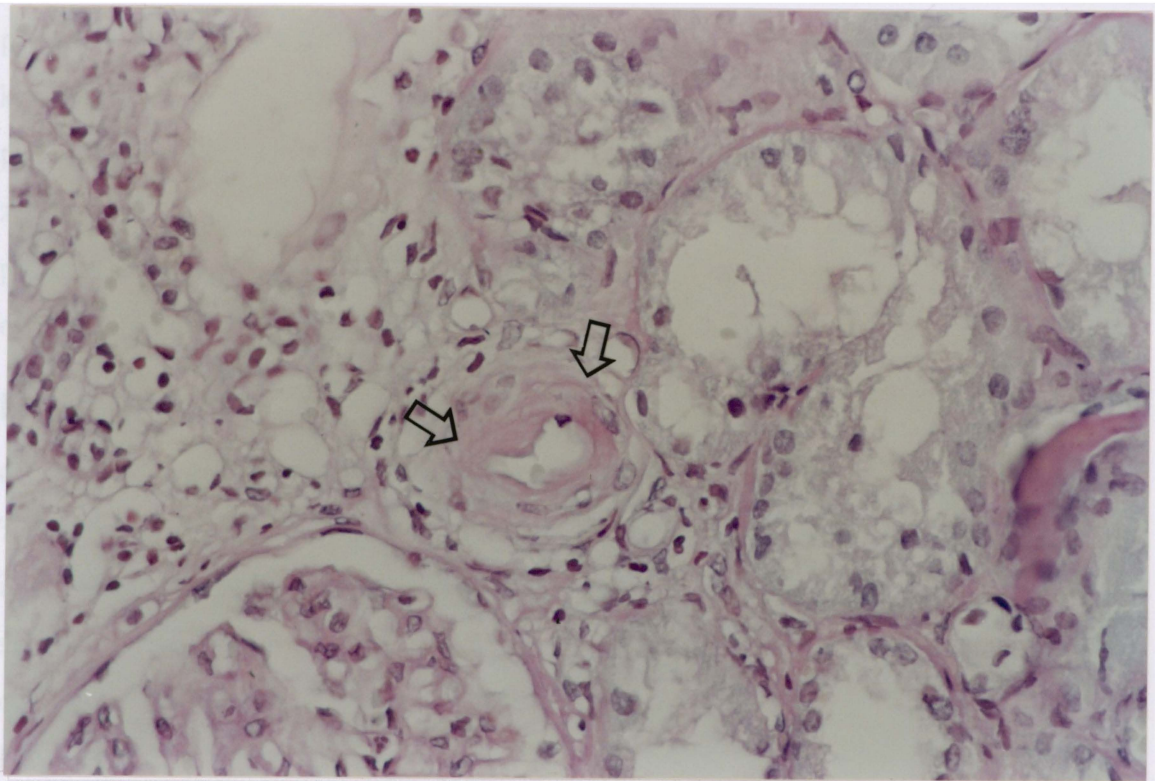
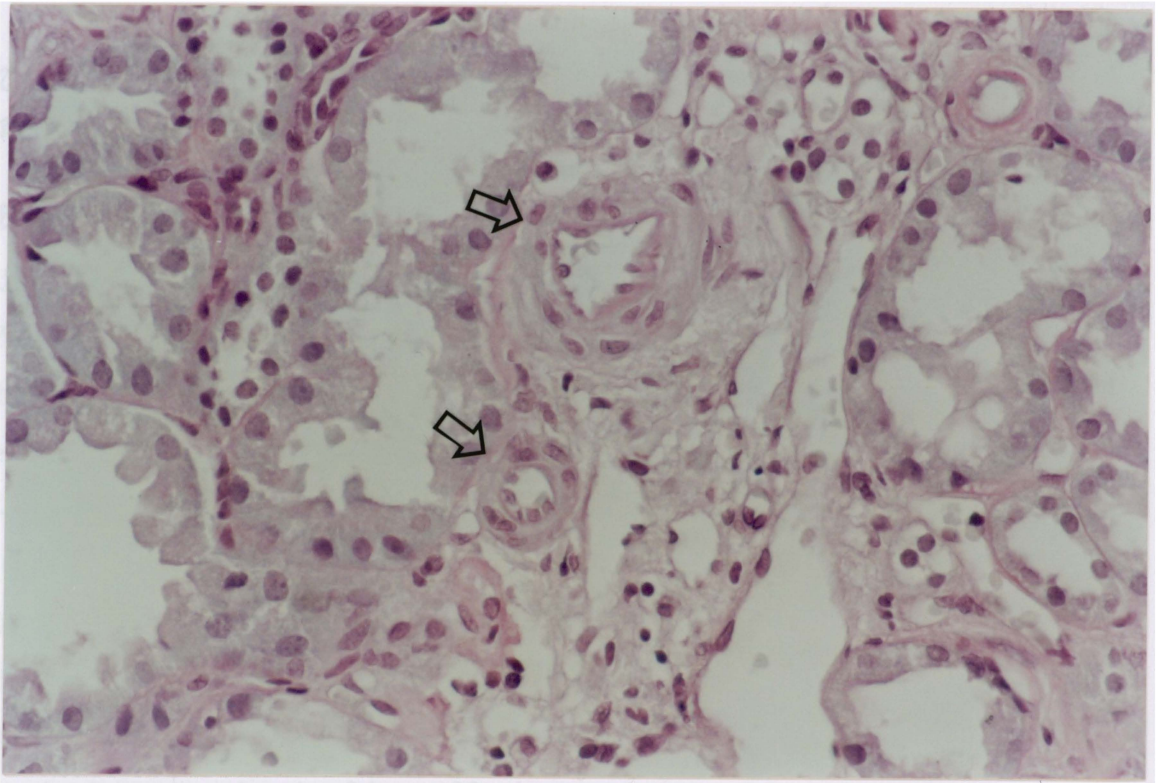
Fot. 23. Miofibroblasty w podścielisku nerki. 1325782. Odczyn w kierunku aktyny gładkomięśniowej Powiększenie 412x

Fot. 24. Miofibroblasty w podścielisku nerki i w obszarze włóknienia śródmiąższu. 1308181. Odczyn w kierunku aktyny gładkomięśniowej. Powiększenie 412x



Fot. 25. Naczynie pozakłębuszkowe bez cech pogrubienie błony wewnętrznej. 1260463 Orceina. Powiększenie 412x

Fot. 26. Nawarstwianie *lamina elastica interna*. 1388285 Orceina. Powiększenie 206x



Fot. 27. Drobne naczynia bez cech szklwienia ściany (strzałki). 1120521 paS Powiększenie 412x

Fot. 28. Zmiany szkliste w ścianie drobnego naczynia (strzałki). 1301646 paS Powiększenie 412x

Uzupełnienie. Zastosowane barwienia specjalne i immunofluorescencjne

1 Barwienie metodą PAMS:

- 1) odparafinowanie i uwodnienie preparatu,
- 2) 1% kwas nadjodowy 15 minut,
- 3) płukanie w wodzie destylowanej,
- 4) roztwór urotropiny 60°C 60 minut,
- 5) 3-krotne płukanie w wodzie destylowanej,
- 6) 0,02% chlorek złota 30 sekund,
- 7) płukanie w wodzie destylowanej,
- 8) 2% tiosiarczan sodu 60 sekund,
- 9) płukanie w wodzie bieżącej 5 minut,
- 10) pąs ksylidynowy z kwaśną fuksyną 20 minut,
- 11) płukanie w 0,5% kwasie octowym,
- 12) kwas fosforowo-molibdenowy 30 sekund,
- 13) płukanie w 0,5% kwasie octowym,
- 14) zieleń jasna 30 sekund,
- 15) płukanie w 0,5% kwasie octowym,
- 16) odwodnienie i nakrycie preparatu.

2 Barwienie metodą PAS:

- 1) odparafinowanie i uwodnienie preparatu,
- 2) 1% kwas nadjodowy 5-10 min,
- 5) kilkakrotne płukanie w wodzie destylowanej,
- 4) osuszenie w bibule,
- 5) odczynnik Schiffa 10 min,
- 6) płukanie w wodzie bieżącej 3 - 5 minut,
- 7) hematoksylina Harrisa - 10 sekund,
- 8) płukanie w wodzie bieżącej 10 minut,
- 9) odwodnienie i nakrycie preparatu.

3 Barwienie orceiną wg Weigerta:

- 1) odparafinowanie i uwodnienie preparatu,

- 2) 1% orceina 30 - 60 minut,
- 5) płukanie w wodzie bieżącej,
- 4) odwodnienie i nakrycie preparatu.

4 Immunofluorescencja bezpośrednia

- 1) odparafinowanie i uwodnienie preparatu,
- 2) trawienie w roztworze pronazy 2 - 3 minuty,
- 3) płukanie w wodzie destylowanej kilkakrotnie przez 5 minut,
- 4) roztwór PBS 5 minut,
- 5) inkubacja z surowicą w rozcieńczeniu fabrycznym 30 minut,
- 6) płukanie w roztworze PBS 2 razy po 10 minut,
- 7) nakrycie preparatu.

Piśmiennictwo:

1. Akaoka K., White R. H. R., Raafat F.: Glomerular morphometry in childhood reflux nephropathy, emphasizing the capillary changes. *Kidney Int* 1995, 47, 1108 - 1114.
2. Akikusa B., Irabu N., Ryutaro M., Tsuchida H.: Tubulointerstitial changes in systemic vasculitic disorders: a quantitative study of 18 biopsy cases. *Am J Kidney Dis* 1990, 16, 481 - 486.
3. Alamartine E., Sabatier J. C., Berthoux F. C.: Comparison of pathological lesions on repeated renal biopsies in 73 patients with primary IgA glomerulonephritis: value of quantitative scoring and approach to final prognosis. *Clin Nephrol* 1990, 34, 45 - 51.
4. Alderwegen van I. E., Bruijn J. A., Heer de E.: T cell subsets in immunologically - mediated glomerulonephritis. *Histol Histopathol* 1997, 12, 241 - 250.
5. Allen A., Harper S., Freehally J.: Origin and structure of pathogenic IgA in IgA nephropathy. *Biochem Soc Trans* 1997, 25, 486 - 490.
6. Allen A., Willis F. R., Beattie T. J., Feehally J.: Abnormal IgA glycolysation in Henoch-Schonlein purpura restricted to patients with clinical nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1998, 13, 930 - 934.
7. Amann K.: New parameters in kidney biopsy diagnostic - morphometry. *Kidney Blood Press Res* 2000, 23, 181 - 182.
8. Ando Y., Moriyama T., Oka K., Takastuji K., Miyazaki M., Akagi Y., Kawada N., Isaka Y., Izumi M., Yokoyama K., Yamauchi A., Horio M., Ando A., Ueda N., Sobue K., Imai E., Hori M.: Enhanced interstitial expression of caldesmon in IgA nephropathy and its suppression by glucocorticoid - heparin therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1999, 14, 1408 - 1417.
9. Bajema I. M., Hagen E. C., Hermans J., Noël L.-H., Waldherr R., Ferrario F., van der Woude F. J., Brjuin J. A.: Kidney biopsy as a predictor for renal outcome in ANCA-associated necrotizing glomerulonephritis. *Kidney Int* 1999, 56, 1751 - 1758.
10. Baker A. J., Mooney A., Hughes J., Lombardi D., Johnson R. J., Savill J.: Mesangial cell apoptosis: the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental mesangial proliferative nephritis. *J Clin Invest* 1994, 94, 2105 - 2116.
11. Bazzi C., Petrini C., Rizza V., Arrigo G., D'Amico G.: A modern approach to selectivity of proteinuria and tubulointerstitial damage in nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2000, 58, 1732 - 1741.
12. Bazzi C., Petrini C., Rizza V., Arrigo G., Beltrame A., D'amico G.: Characterization of proteinuria in primary glomerulonephritides. SDS - PAGE patterns: clinical significance and prognostic value of low molecular weight ("tubular") proteins. *Am J Kidney Dis* 1997, 29, 27 - 35.
13. Bailey E., Bottomley M. J., Westwell S., Pringle J. H., Furness P. N., Feehally J., Brenchley P. E. C., Harper J. S.: Vascular endothelial growth factor mRNA expression in minimal change, membranous and diabetic nephropathy demonstrated by non-isotopic in situ hybridisation. *J Clin Pathol* 1999, 52, 735 - 738.
14. Bennett W. M., Walker R. G., Kincaid-Smith P.: Renal cortical interstitial volume in mesangial IgA nephropathy. *Lab Invest* 1982, 47, 330 - 335.
15. Berg U. B., Bohman S. O., Widstam - Attorps U.: Renal histological changes in relation to renal function and urinary protein excretion in IgA nephropathy. *Arch Dis Child* 1991, 66, 593 - 597.
16. Bohle A., Bader R., Grund K. E., Mackensen S., Neunheffer J.: Serum creatinine concentration and renal interstitial volume. Analysis of correlations in endocapillary (acute) glomerulonephritis and in moderately severe mesangioproliferative glomerulonephritis. *Virchows Arch A Path Anat Histol* 1977, 375: 87 - 96
17. Bohle A., Glomb D., Grund K. E., Mackensen S.: Correlation between relative interstitial volume of the renal cortex and serum creatinine concentration in minimal changes with nephrotic syndrome and in focal sclerosing glomerulonephritis. *Virchows Arch A Path Anat Histol* 1977, 376, 221 - 232
18. Bohle A. Mackensen - Haen S. von Gise H.: Significance of tubulointerstitial changes in the renal, cortex for the excretory function and concentration ability of the, kidney: a morphometric contribution. *Am J Nephrol* 1987, 7, 421 - 433.
19. Bohle A., Mackensen - Haen S., von Gise H., Grund K. E., Wehrmann M., Batz C., Bogenschütz O., Schmitt H., Nagy J., Müller C., Müller G.: The consequences of tubulo - interstitial changes for renal function in glomerulopathies. A morphometric and cytological analysis. *Pathol Res Pract* 1990, 186, 135 - 144.

20. Border W. A., Noble N. A., Yamamoto T., Harper J. R., Yamaguchi Y., Pierschbacher M. D., Ruoslahti E.: Natural inhibitor of transforming growth factor - β protects against scarring in experimental kidney disease. *Nature* 1992, 360, 361 - 364.
21. Braun M., Davis III A. E.: Cultured human glomerular mesangial cells express the C5a receptor. *Kidney Int* 1998, 54, 1542 - 1549.
22. Clapp W. L.: Adult kidney. W: Sternberg S. S. red.: *Histology for pathologists*. str. 195 - 213. Raven Press Ltd. New York 1992.
23. Chadban S. J.: Glomerulonephritis recurrence in the renal graft. *J Am Soc Nephrol* 2001, 12, 394 - 402.
24. Chevalier R. L., Goyal S., Kim A., Chang A. Y., Landau D., LeRoith D.: Renal tubulointerstitial injury from urethral obstruction in the neonatal rat is attenuated by IGF-1. *Kidney Int* 2000, 57, 882 - 890.
25. Chui D., Sellakumar G., Green R. S., Sutton-Smith M., McQuistan T., Marek K. W., Morris H. R., Dell A., Marth J. D.: Genetic remodelling of protein glycosylation *in vivo* induces autoimmune disease. *PNAS* 2001, 98, 1142 - 1147.
26. Churg J., Bernstein J., Glasscock R. J.: *Renal disease: classification and atlas of glomerular disease*, second edition. Igaku - Shoin, New York, Tokyo, 1995
27. Cortes P., Riser B. L., Zhao X., Narins R. G.: Glomerular volume expansion and mesangial cell mechanical strain: mediators of glomerular pressure injury. *Kidney Int* 1994, 45, S11 - S16.
28. Couser W. G. Johnson R. J., Mechanisms of progressive renal disease in glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 23, 193 - 8, 1994.
29. Cybulsky A. V.: Extracellular matrix as a determinant of signaling responses in glomerular epithelial cells. *Kidney Int* 1999, 56, 1242 - 1246.
30. Cybulsky A. V.: Growth factor pathways in proliferative glomerulonephritis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000, 9, 217 - 223.
31. D'amico G.: Tubulo - interstitial damage in glomerular diseases: its role in the progression of the renal damage. *Nephrol Dial Transplant* 1998, 13 (suppl 1), 80 - 85.
32. D'amico G., Ferrario F., Rastaldi M. P.: Tubulointerstitial damage in glomerular diseases: its role in the progression of renal damage. *Am J Kidney Dis* 1995, 26, 124 - 132.
33. Danilewicz M.: Zastosowanie metod histomorfometrycznych do diagnostyki różnicowej kłębkowych mezangialno - włósniczkowych zapaleń nerek. W: *Patomorfologia wybranych glomerulopatii (zapalenie kłębkowe błoniasto - rozplemowe)*. Konferencja Naukowo - szkoleniowa Polskiego Oddziału Międzynarodowej Akademii Patologii.
34. Danilewicz M., Kałużyński A., Wągrowaska - Danilewicz M., Bechcińska B., Żabicka H.: Ewolucja zmian morfologicznych i klinicznych w kłębkowych rozplemowych mezangialnych zapaleniach nerek. *Wiad Lek* 1992, 45, 433 - 435.
35. Danilewicz M., Wągrowaska - Danilewicz M.: The consequences for renal function of the glomerular deposition of PAS positive material in proliferative glomerulopathies. A quantitative study. *Gen Diagn Pathol* 1997, 143, 225 - 230.
36. Danilewicz M., Wągrowaska - Danilewicz M.: Idiopathic membranous glomerulonephritis. A quantitative study of glomerular and interstitial lesions. *Pol J Pathol* 1995, 46, 173 - 177.
37. Danilewicz M., Wągrowaska - Danilewicz M.: Mesangiocapillary glomerulonephritis type III and idiopathic membranous glomerulopathy. Morphometric comparison of the deposits and glomerular basement membrane including clinico - morphological correlations. *Pol J Pathol* 1997, 48, 43 - 48.
38. Danilewicz M., Wągrowaska - Danilewicz M.: Nefropatia IgA - analiza 60 przypadków. *PTL* 1994, 49, 141 - 143.
39. Danilewicz M., Wągrowaska - Danilewicz M.: Quantitative analysis of primary proliferative mesangial glomerulonephritis (PMGN) and diffuse form of idiopathic IgA nephropathy (IgAN). Variants of the same morphological process? *Pol J Pathol* 1996, 47, 73 - 78.
40. Danilewicz M., Wągrowaska - Danilewicz M.: Minimal change disease and idiopathic focal segmental glomerulosclerosis in adults. A quantitative study. *Pol J Pathol* 1996, 47, 209 - 214.
41. Danilewicz M., Wągrowaska - Danilewicz M.: Primary IgA nephropathy. Contrasting morphometric insight into glomerular and interstitial changes in younger and elderly patients. *Pol J Pathol* 1997, 48, 173 - 178.

42. Danilewicz M., Wągrowaska - Danilewicz M.: Morphometric comparison of the density of the mesangial deposits in idiopathic IgA - nephropathy and Schoenlein - Henoch nephritis. An ultrastructural study. *Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku*. 1997, 42 Suppl, 7 - 11.
43. Danilewicz M., Wągrowaska - Danilewicz M.: Glomerular basement membrane thickness in minimal change disease. The ultrastructural quantitative study. *Pol J Pathol* 1998, 49, 23 - 26.
44. Danilewicz M., Wągrowaska - Danilewicz M.: Morphometric analysis of glomerular and interstitial lesions in idiopathic IgA nephropathy and Schoenlein - Henoch purpura. *Pol J Pathol* 1998, 49, 303 - 307.
45. Danilewicz M., Wągrowaska-Danilewicz M.: Quantitative analysis of interstitial mast cells in idiopathic mesangiocapillary glomerulonephritis type I. XV Zjazd Polskiego Towarzystwa Patologów., Kraków, 21 - 23 czerwiec 2001. Streszczenie w: *Pol J Pathol* 2001, 52, 73.
46. Danilewicz M., Wągrowaska-Danilewicz M.: Expression of $\alpha 5\beta 1$ and $\alpha 6\beta 1$ integrins in IgA nephropathy (IgAN) with mild and severe proteinuria. The immunohistochemical study. XV Zjazd Polskiego Towarzystwa Patologów, Kraków, 21 - 23 czerwiec 2001. Streszczenie w: *Pol J Pathol* 2001, 52, 99.
47. Danilewicz M., Wągrowaska-Danilewicz M., Antoszczyk L.: A quantitative study of the interstitial expression of alpha-smooth muscle actin (alfa-SMA) in idiopathic membranous glomerulonephritis and minimal change disease in adults. *Pol J Pathol* 2000, 51, 37 - 43.
48. Ding G., Franki N., Kapasi A. A., Reddy K., Gibbons N.: Tubular cell senescence and expression of TGF- $\beta 1$ and p21^{WAF1/CIP1} in tubulointerstitial fibrosis of aging rats. *Exp Mol Pathol* 2001, 70, 43 - 53.
49. Doublier S., Seurin D., Fouqueray B., Verpont M. - C., Callard P., Striker L. J., Striker G. E., Binoux M., Baud L.: Glomerulosclerosis in mice transgenic for human insulin-like growth factor-binding protein-1. *Kidney Int* 2000, 57, 2299 - 2307.
50. Eddy A. A.: Interstitial nephritis induced by protein - overload proteinuria. *Am J Pathol* 1989, 135, 719 - 733.
51. Eddy A. A., Giachelli C. M.: Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein - overload proteinuria. *Kidney Int* 1995, 47, 1546 - 1557.
52. Essen van G. G., Rensma P. L., Zeeuw de D., Sluiter W. J., Scheffer H., Apperloo A. J.: Association between antiotensin - converting enzyme gene polymorphism and failure of renoprotective therapy. *Lancet* 1996, 347, 94 - 95.
53. Fan J. - M., Ng Y. - Y., Hill P. A., Nikolic - Paterson D. J., Mu W., Atkins R. C., Lan H. Y.: Transforming growth factor- β regulates tubular epithelial - myofibroblast transdifferentiation *in vitro*. *Kidney Int* 1999, 56, 1455 - 1467.
54. Fogo A. B.: Pathology of progressive nephropathies. *Curr Opin Nephrol Hypertension* 2000, 9, 241 - 246.
55. Freese P., Norden G., Nyberg G.: Morphologic high - risk factors in IgA nephropathy. *Nephron* 1998, 79, 420 - 425.
56. Furuichi K., Wada T., Sakai N., Iwata Y., Yoshimoto K., Shimizu M., Kobayashi K., Takasawa K., Kida H., Takeda S., Mukaida N., Matsushima K., Yokoyama H.: Distinct expression of CCR1 and CCR5 in glomerular and interstitial lesions of human glomerular disease. *Am J Nephrol* 2000, 20, 291 - 299.
57. Furness P. N.: ACP best practice No 160. Renal biopsy specimens. *J Clin Pathol* 2000, 53, 433 - 438.
58. Furness P. N., Rogers - Wheatley L., Harris K. P.: Semiautomatic quantitation of macrophages in human renal biopsy specimens in proteinuric states. *J Clin Pathol* 1997, 50, 118 - 122.
59. Gharavi A. G., Yan Y., Scolari F., Schena F. P., Frasca G. M., Ghiggeri G. M., Cooper K., Amoroso A., Viola B. F., Battini G., Caridi G., Canova C., Farhi A., Subramanian V., Nelson-Williams C., Woodford S., Julian B. A., Wyatt R. J., Lifton R. P.: IgA nephropathy, the most common cause of glomerulonephritis, is linked to 6q22-23. *Nature Genetics*, 2000, 26, 354-357.
60. Gonzalo A., Gallego A., Rivera M., Gallego N., Ortuno J.: Progression of renal failure in chronic primary glomerular diseases. *Nephron* 1994, 68, 32 - 37.
61. Goor van H., Horst van der M. L. C., Fidler V., Grond J.: Glomerular macrophage modulation affects mesangial expansion in the rat after renal ablation. *Lab Invest* 1992, 66, 564 - 571.
62. Goumenos D. S., Tsamandas A. C., Oldroyd S., Sotsiou F., Tsakas S., Petropoulou C., Bonikos D., El Nahas A. M., Vlachojannis J. G.: Transforming growth factor- $\beta 1$ and myofibroblasts: a potential pathway towards renal scarring in human glomerular disease. *Nephron* 2001, 87, 240 -248.

63. Grone H. - J., Weber K., Grone E., Helmchen U., Osborn M.: Coexpression of keratin and vimentin in damaged and regenerating tubular epithelia of the kidney. *Am J Pathol* 1987, 129, 1 - 8.
64. Gultmann C., Rudenberg S., Osterby R.: Renal arterioles in patients with type I diabetes and microalbuminuria before and after treatment with antihypertensive drugs. *Virchows Arch* 1999, 434, 523 - 528.
65. Hiromura K., Kurosawa M., Yano S., Naruse T.: Tubulointerstitial mast cell infiltration in glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 1998, 32, 593 - 599.
66. Howie A. J.: Interstitial nephritis. W: Anthony P. P., McSween R. N. M., Lowe D. G. (red.): *Recent advances in histopathology 17*. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Madrid, Melbourne, New York, San Francisco and Tokyo, 1997.
67. Howie A. J., Ferreira M. A. S., Majumdar A., Lipkin G. W.: Glomerular prolapse as precursor of one type of segmental sclerosing lesions. *J Pathol* 2000, 190, 478 - 483.
68. Howie A. J., Lote C. J.: Interactions between renal tubules and interstitium. *J Clin Pathol* 1996, 49, 783 - 786.
69. Hruby Z., Smolska D., Filipowski H., Rabczynski J., Cieslar E., Kopec W., Dulawa J.: The importance of tubulointerstitial injury in the early phase of primary glomerular disease. *J Int Med* 1998, 243, 215 - 222.
70. I-Hong Hsu S., Ramirez S. B., Winn M. P., Bonventre J. V., Owen W. F.: Evidence for genetic factors in the development and progression of IgA nephropathy. *Kidney Int* 2000, 57, 1818 - 1835.
71. Idasiak - Piechocka I., Krzymański M.: Rola zmian cewkowo - śródmiąższowych w postępującym upośledzeniu funkcji nerek u chorych na przewlekłe kłębuszkowe zapalenie nerek (KZN). *Przeg Lek* 1996, 53, 443 - 453.
72. Isaka Y., Fujiwara Y., Ueda N., Kaneda Y., Kamada T., Imai E.: Glomerulosclerosis induced by in vivo transfection of transforming growth factor - β or platelet - derived growth factor gene into rat kidney. *J Clin Invest* 1993, 92, 2597 - 2601.
73. Ito Y., Aten J., Bende R. J., Oemar B. S., Rabelink T. J., Weening J. J., Goldschmeding R.: Expression of connective tissue growth factor in human renal fibrosis. *Kidney Int* 1998, 53, 853 - 861.
74. Jehle P. M., Stracke S., Ernst F., Jehle D. R., Grunewald R. W., Haller H., Keller F.: Pleiotropic effects of hepatocyte growth factor in proximal tubule involve different signaling pathways. *Kidney Int* 1998, 67, S152 - S154.
75. Jepsen L. F., Mortensen P. B.: Interstitial fibrosis of the renal cortex in minimal change lesion and its correlation with renal function. A quantitative study. *Virchows Archiv A Path Anat Histol* 1979, 383, 265 - 270.
76. Kasiske B. L.: Relationship between vascular disease and age-associated changes in the human kidney. *Kidney Int* 1987, 31, 1153 - 1159.
77. Kaplan C., Pasternack B., Shah H., Gallo G.: Age - related incidence of sclerotic glomeruli in human kidneys. *Am J Pathol* 1975, 80, 227 - 234.
78. Kaplan J., Pollak M. R.: Familial focal segmental glomerulosclerosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001, 10, 183 - 187.
79. Kappel B., Olsen S.: Cortical interstitial tissue and sclerosed glomeruli in the normal human kidney, related to age and sex. *Virchows Archiv A Path Anat Histol* 1980, 387, 271 - 277.
80. Katafuchi R., Kiyoshi Y., Oh Y., Uesugi N., Ikeda K., Yanase T., Fujimi S.: Glomerular score as a prognosticator in IgA nephropathy: its usefulness and limitation. *Clin Nephrol* 1998, 49, 1 - 8.
81. Katafuchi R., Oh Y., Hori K., Komota T., Yanase T., Ikeda K., Omura T., Fujimi S.: An important role of glomerular segmental lesions on progression of IgA nephropathy: a multivariate analysis. *Clin Nephrol* 1994, 41, 191 - 198.
82. Katafuchi R., Takebayashi S.: Morphometrical and functional correlations in benign nephrosclerosis. *Clin Nephrol* 1987, 28, 238 - 243.
83. Katafuchi R., Takebayashi S., Taguchi T., Harada T.: Structural - functional correlations in serial biopsies from patients with glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 1987, 28, 169 - 173.
84. Katafuchi R., Vamvakas E., Neelakantappa K., Baldwin D. S., Gallo G. R.: Microvascular disease and the progression of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1990, 15, 72 - 79.
85. Kemper M. J., Wolf G., Müller-Wiefel D. E.: Transmission of glomerular permeability factor from a mother to her child. *NEJM* 2001, 344, 386 - 387.
86. Khan T. N., Sinniah R.: Morphometric study showing the importance of distal tubular damage in impaired creatinine clearance. *Am J Nephrol* 1993, 13, 178 - 183.

87. King J. A. C., Culpepper R. M., Corey G. R., Tucker J. A., Lajoie G., Howell D. N.: Glomerulopathies with fibrillary deposits. *Ultrastruct Pathol* 2000, 24, 15 - 21.
88. Kitching A. R., Tipping P. G., Timoshanko J. R., Holdsworth S. R.: Endogenous interleukin - 10 regulates Th1 responses that induce crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 2000, 57, 518 - 525.
89. Klinger M.: Immunopatogeneza kłębuszkowych zapaleń nerek - znaczenie nowych koncepcji dla praktyki klinicznej. *Pol Arch Med Wewn* 1999, 101, 547 - 552.
90. Kondo S., Yoshizawa N., Kusumi Y., Takeuchi A., Torikata C.: Studies of glomerular permeability factor (GPF) in focal segmental glomerular sclerosis and the relationship between GPF and vascular permeability factor (VPF). *Clin Nephrol* 1999, 52, 278 -284.
91. Kriz W., Elger M., Hosser H., Hähnel B., Provoost A., Kränzlin B., Gretz N.: How does podocyte damage results in tubular damage? *Kidney Blood Press Res* 1999, 22, 26 - 36.
92. Kriz W., Gretz N., Lemley K. V.: Progression of glomerular diseases: is the podocyte the culprit? *Kidney Int* 1998, 54, 687 - 697.
93. Lan H. Y., Nikolic - Paterson D. J., Mu W., Atkins T. C.: Local macrophage proliferation in the progression of glomerular and tubulointerstitial injury in rat anti - GBM glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995, 48, 753 - 760.
94. Lane P. H., Steffes M. W., Fioretto P., Mauer M.: Renal interstitial expansion in insulin - dependent diabetes mellitus *Kidney Int* 1993, 43, 661 - 667.
95. Launay P., Grossetete B., Arcos-Fijardo M., Gaudin E., Torres S. P., Beaudoin L., Patey-Marieaud de Serre N., Lehuen A., Monteiro R. C.: Fca receptor (CD59) mediates the development of immunoglobulin A (IgA) nephropathy (Berger's disease): evidence for pathogenic soluble receptor-IgA complexes in patients and CD89 transgenic mice. *J Exp Med* 2000, 191, 1999 - 2009.
96. Lee A. H. S., Bass P. S., Williams J. H., Ewans B., Jones D. B., Theaker J. M., Davies D. R.: CD45RO and CD45RA positive cell populations in idiopathic membranous and IgA glomerulopathy. *J Clin Pathol* 1996, 49, 43 -47.
97. Lee H. S., Kim T. S.: A morphometric study of preeclamptic nephropathy with focal segmental glomerulosclerosis. *Clin. Nephrol.* 1995, 44, 14 - 21.
98. Lee H. S., Koh H. I.: Nature of progressive glomerulosclerosis in human membranous nephropathy. *Clin. Nephrol.* 1993, 39, 7 - 16.
99. Lee H. S., Lim S. D.: The significance of glomerular hypertrophy in focal segmental glomerulosclerosis. *Clin Nephrol* 1995, 44, 349 - 355.
100. Lemley K. V., Kriz W.: Anatomy of the renal interstitium. *Kidney Int* 1991, 39, 370 - 381.
101. Leung J. C. K., Tang S. C. W., Lam M. F., Chan T. M., Lai K. N.: Charge - dependent binding of polymeric IgA1 to human mesangial cells in IgA nephropathy. *Kidney Int* 2001, 59, 277 - 285.
102. Locateli F., Del Vecchio L., Andrulli S., Morai P., Tentori F.: The role of underlying nephropathy in the progression of renal disease. *Kidney Int Supl* 2000, 75, S49 - S55.
103. Mackensen - Haen S., Bohle A., Christensen J., Wehrmann M., Kendziorra H., Kokot F.: The consequences for renal function of widening of the interstitium and changes in the tubular epithelium of the renal cortex and outer medulla in various renal diseases. *Clin Nephrol* 1992, 37, 70 - 77.
104. Mackensen - Haen S., Eissele R., Bohle A., Contribution on the correlation between morphometric parameters gained from the renal cortex and renal function in IgA nephritis. *Lab Invest* 1988, 59, 239 - 244.
105. Mackensen S., Grund K. - E., Bader R., Bohle A.: The influence of glomerular and interstitial factors on the serum creatinine concentration in renal amyloidosis. *Virchows Arch A Path Anat Histol* 1977, 375, 159 - 168.
106. Mackensen - Haen S., Grund K. - E., Schirmeister J., Bohle A.: Impairment of the glomerular filtration rate by glomerular and interstitial factors in membranoproliferative glomerulonephritis with normal serum creatinine concentration. *Virchows Arch A Path Anat Histol* 1979, 382, 11 - 19.
107. Magil A. B.: Tubulointerstitial lesions in human membranous glomerulonephritis: relationship to proteinuria. *Am J Kidney Dis* 1995, 25, 375 - 379.
108. Makino H., Sugiyama H., Kashihara N.: Apoptosis and extracellular matrix-cell interaction in kidney disease. *Kidney Int* 2000, 58, S67 - S75.
109. Marks S. D., Rees L.: Spontaneous clinical improvement in dense deposit disease. *Pediatr Nephrol* 2000, 14, 322 - 324.
110. Martinez - Maldonado M.: Hypertension in end - stage renal disease. *Kidney Int* 1998, 54, S67 - S72.

111. Masseroli M. O'Valle F. Andujar M. Ramirez C. Gomez - morales M. de Dios Luna J. Aguilar M. Aguilar D. Rodriguez - Puyol M., Del Moral R. G. : Design and validation of a new image analysis method for automatic quantification of interstitial fibrosis and glomerular morphometry. *Lab Invest* 1998, 78, 511 - 522.
112. McLachlan M. S. F., Guthrie J. C., Anderson C. K., Fulker M. J.: Vascular and glomerular changes in the ageing kidney. *J Pathol* 1977, 121, 65 - 78.
113. Meyrier A.: Mecanismos vasculares de la fibrose renal. *Nephrovasculopathies et hypertension arterielle. Bull Acad Natle Med* 1999, 183, 33 - 46.
114. Mizuno S., Matsumoto K., Kurosawa T., Mizuno - Horikawa Y., Nakamura T.: Reciprocal balance of hepatocyte growth factor and transforming growth factor - β 1 in renal fibrosis in mice. *Kidney Int* 2000, 57, 937 - 948.
115. Moreso F., Gratin C., Vitria J., Condom E., Poveda R., Cruzado J. M., Grinyo J. M., Alsina J., Seron D.: Automatic evaluation of renal interstitial volume fraction. *Transplant Proc* 1995, 27, 2231 - 2232.
116. Naiker I. P., Ramsaroop R., Somers S. R., Randeree I. G., Naicker S., Seedat Y. K.: Leukocyte analysis of tubulointerstitial nephritis in primary membranoproliferative glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 1996, 27, 316 - 320.
117. Nakatsuji S., Yamate J., Sakuma S.: Relationship between vimentin expressing renal tubules and interstitial fibrosis in chronic progressive nephropathy in aged rats. *Virchows Arch* 1998, 433, 359 - 367.
118. Nagaku M.: Complement regulatory proteins in glomerular disease. *Kidney Int* 1998, 54, 1419 - 1428.
119. Narita I., Nakayama H., Goto S., Takeda T., Sakatsume M., Saito A., Nakagawa Y., Arakawa M.: Identification of genes specifically expressed in chronic and progressive glomerulosclerosis. *Kidney Int* 1997, 63, S215 - S217.
120. Nath K. A.: Tubulointerstitial changes as a major determinant in the progression of renal damage. *Am J Kidney Dis* 1992, 20, 1 - 17.
121. Nath K. A.: The tubulointerstitium in progressive renal disease. *Kidney Int* 1998, 54, 992 - 994.
122. Neilson E. G.: Tubulointerstitial injury and its role in progressive renal damage: summary and concluding remarks. *Kidney Int* 1994, 45, S116 - S117.
123. Ng Y. - Y., Huang T. - P., Yang W. - C., Chen Z. - P., Yang A. - H., Mu W., Nikolic - Paterson D. J., Atkins R. C., Lan H. Y.: Tubular epithelial - myofibroblast transdifferentiation in progressive tubulointerstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rats. *Kidney Int* 1998, 54, 864 - 876.
124. Nishimoto K., Shiiki H., Nishino T., Uyama H., Iwano M., Dohi K.: Reversible glomerular hypertrophy in adult patients with primary focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 1997, 8, 1668 - 1678.
125. Nyberg E., Bohman S. O., Berg U.: Glomerular volume and renal function in children with different types of the nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1994, 8, 285 - 289.
126. Oberholzer M., Torhorst J., Perret E., Mihatsch M. J.: Minimum sample size of kidney biopsies for semiquantitative and quantitative evaluation. *Nephron* 1983, 34, 192 - 195.
127. Ohashi R., Kitamura H., Yamanaka N.: Peritubular capillary injury during the progression of experimental glomerulonephritis in rats. *J Am Soc Nephrol* 2000, 11, 47 - 56.
128. Okada H., Moriwaki K., Konishi K., Kobayashi T., Sugahara S., Nakamoto H., Saruta T., Suzuki H.: Tubular osteopontin expression in human glomerulonephritis and renal vasculitis. *Am J Kidney Dis* 2000, 36, 498 - 506.
129. Okada T., Yamagishi T., Kiso Y., Morikawa Y., Sasaki F.: Effects of maternal uninephrectomy on the development of the proximal tubule in fetal rat kidney: morphometry study. *J Vet Med Sci* 1996, 58, 413 - 417.
130. Ong A. C. M., Fine L. G.: Loss of glomerular function and tubulointerstitial fibrosis: cause or effect? *Kidney Int* 1994, 45, 345 - 351.
131. Ophascharoensuk V., Pippin J. W., Gordon K. L., Shankland S. J., Couser W. G., Johnson R. J.: Role of intrinsic renal cells versus infiltrating cells in glomerular crescent formation. *Kidney Int* 1998, 54, S416 - S425.
132. Ostendorf T., Kunter U., Gröne H. J., Bahlmann F., Kawachi H., Shimizu F., Koch K. M., Janjic N., Floege J.: Specific antagonism of PDGF prevents renal scarring in experimental glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2001, 12, 909 - 918.

133. Ou Z. L., Natori Y., Natori Y.: Gene expression of CC chemokines in experimental acute tubulointerstitial nephritis. *J Lab Clin Med* 1999, 133, 41 - 47.
134. Panzer U., Thaiss F., Zahner G., Barth P., Reszka M., Reinking R. R., Wolf G., Helmchen U., Stahl R. A. K.: Monocyte chemoattractant protein-1 and osteopontin differentially regulate monocyte recruitment in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 2001, 59, 1762 - 1769.
135. Paraskevakou H., Kavantzias N., Pavlopoulos P. M., Voudiklari S., Zerefos N., Papaglanis N., Davaris P.: Membranous glomerulonephritis: a morphometric study. *Pathol Res Practice* 2000, 196, 141 - 144.
136. Passerini P., Ponticelli C.: Treatment of focal segmental glomerulosclerosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001, 10, 189 - 193.
137. Peruzzi L., Trusolino L., Amore A., Gianoglio B., Cirina P., Basso G., Emancipator S. N., Marchisio P. C., Coppo R.: Tubulointerstitial responses in the progression of glomerular diseases: albuminuria modulates $\alpha\beta 5$ integrin. *Kidney Int* 1996, 50, 1310 - 1320.
138. Peters H., Border W. A., Noble N. A.: Angiotensin II blockade and low-protein diet produce additive therapeutic effects in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 2000, 57, 1493 - 1501.
139. Pichler R., Giachelli C. M., Lombardi D., Pippin J., Gordon K., Alpers C. E., Schwartz S. M., Johnson R. J.: Tubulointerstitial disease in glomerulonephritis. Potential role of osteopontin (uropontin). *Am J Pathol* 1994, 144, 915 - 926.
140. Pichler R. H., Hugo C., Shankland S. J., Reed M. J., Bassuk J. A., Andoh T. F., Lombardi D. M., Schwartz S. M., Bennett W. M., Alpers C. E., Sage E. H., Johnson R. J., Couser W. G.: SPARC is expressed in renal interstitial fibrosis and in renal vascular injury. *Kidney Int* 1996, 50, 1978 - 1989.
141. Polenakovic M., Grcevska L.: Development of renal failure in IgA nephropathy: the importance of interstitial infiltration and deposition of fibrinogen. *Renal Failure* 1994, 16, 511 - 523.
142. Poveda R., Carrera M., Moreso F., Carreras L., Gonzalez M. T., Alsina J.: Histologia renal y morfologia del intersticio en pacientes nefroticos tratados con ciclosporina. *Nefrologia* 1995, 15, 252 - 257.
143. Razga Z., Ivanyi B., Zidar N., Ferluga D., Sonkodi S., Ormos J.: Quantitative ultrastructural study of afferent and efferent arterioles in IgA glomerulonephritis and benign nephrosclerosis. *Virchows Arch* 1996, 429, 275 - 281.
144. Remuzzi G., Bertani T.: Pathophysiology of progressive nephropathies. *NEJM* 1998, 339, 1448 - 1456.
145. Risdon R. A., Sloper J. C., Wardener H. E.: Relationship between renal function and histological changes found in renal - biopsy specimens from patients with persistent glomerular nephritis. *Lancet* 1968, 2, 363 - 370.
146. Ritz E., Orth S., Weinreich T., Wagner J.: Systemic hypertension versus intraglomerular hypertension in progression. *Kidney Int* 1994, 45, 438 - 442.
147. Riser B. L., Varani J., Cortes P., Yee J., Dame M., Sharba A. K.: Cyclic stretching of mesangial cells up-regulates intercellular adhesion molecule-1 and leukocyte adherence. *Am J Pathol* 2001, 158, 11- 17.
148. Rodriguez-Iturbe B.: Postinfectious glomerulonephritis. *Am J Kidney Diseases* 2000, 35, 46 - 48.
149. Rodriguez - Lopez A. M., Flores O., Arevalo M. A., Lopez - nova J. M.: Glomerular cell proliferatio and apoptosis in uninephrectomized spontaneously hypertensive rats. *Kidney Int* 1998, 54, S36 - S40.
150. Rosenkranz A. R., Knight S., Sethi S., Alexander S. I., Cotran R. S., Mayadas T. N.: Regulatory interactions of $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T cells in glomerulonephritis. *Kidney Int* 2000, 58, 1055 - 1066.
151. Rostoker G., Behar A., Lagrue G.: Vascular hyperpermeability in nephrotic edema. *Nephron* 2000, 85, 194 - 200.
152. Roszkowska-Blaim M., Mizerska-Wasiak M., Małdyk J., Węglarska J., Fiejak E.: Indeks zmian histopatologicznych w gwałtownie postępującym kłębuszkowym zapaleniu nerek - doniesienie wstępne. *Pol Merk Lek* 2000, 46 . 291 - 2.
153. Roberts I. S. D., Burrows C., Shanks J. H., Venning M., McWilliam L. J.: Interstitial myofibroblasts: predictors of progression in membranous nephropathy. *J Clin Pathol* 1997, 50, 123 - 127.
154. Roberts I. S. D., Brenchley P. E. C.: Mast cells: the forgotten cells of renal fibrosis. *J Clin Pathol* 2000, 53, 858 - 862.

155. Roy - Chaudhury P., Hillis G., McDonald S., Simpson J. G., Power D. A.: Importance of the tubulointerstitium in human glomerulosclerosis. II. Distribution of integrin chains $\beta 1\alpha 1$ to 6 and αv . *Kidney Int* 1997, 52, 103 - 110.
156. Roy - Chaudhury P., Wu B., King G., Campbell M., McLeod A. M., Haites N. E., Simpson J. G., Power D. A.: Adhesion molecule interactions in human glomerulonephritis: importance of the tubulointerstitium. *Kidney Int* 1996, 49, 127 - 134.
157. Ruiz - Ortega M., Lorenzo O., Egido J.: Angiotensin III up - regulates genes involved in kidney damage in mesangial cells and renal interstitial fibroblasts. *Kidney Int* 1998, 54, S41 - S45.
158. Rumpelt H. J., Thoenes W.: Focal and segmental sclerosing glomerulopathy (-nephritis). A pathomorphological study. *Virchows Arch A Path Anat Histol* 1974, 362, 265 - 282.
159. Sano T., Kamata K., Shigematsu H., Kobayashi Y.: A case of anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis superimposed on membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2000, 15, 1238 - 1241.
160. Sasatomi Y., Kiyoshi Y., Takebayashi S.: A clinical and pathological study on the characteristics and factors influencing the prognosis of crescentic glomerulonephritis using a cluster analysis. *Pathol Int* 1999, 49, 781 - 785.
161. Sassy - Prigent C., Heudes D., Jouquey S., Auberval D., Bellair M. - F., Michel O., Hamon G., Bariety J., Bruneval P.: Morphometric detection of incipient glomerular lesions in diabetic nephropathy in rats. *Lab. Invest.* 1995, 73, 64 - 70.
162. Sawai T., Murakami K., Kurasuno Y.: Morphometric analysis of the kidney lesions in mixed connective tissue disease (MCTD). *Tohoku J Exp Med* 1994, 174, 141 - 154.
163. Schadde E., Kretzler M., Banas B., Luckow B., Assmann K., Schlöndorff D.: Expression of chemokines and their receptors in nephrotoxic serum nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2000, 15, 1046 - 1053.
164. Schaefer L., Hausser H., Altenburger M., Ugorcakova J., August C., Fisher L. W., Schaefer R. M., Kresse H.: Decorin, biglycan and their endocytosis receptor in rat renal cortex. *Kidney Int* 1998, 54, 1529 - 1541.
165. Schena F. P.: Progression of renal damage in chronic glomerulonephritis and the therapeutical implications. *Przegląd Lekarski* 1998, 55 (suppl.1), 28.
166. Scholl U., Wastl U., Risler T., Braun N., Grabensee B., Heering P., Schollmeyer P., Zauner I., Stein G., Funfstuck R., Keller F.: The "point of no return" and the rate of progression in the natural history of IgA nephritis. *Clin Nephrol* 1999, 52, 285 - 292.
167. Shankland S. J., Ly H., Thai K., Scholey J. W.: Increased glomerular capillary pressure alters glomerular cytokine expression. *Circ Res* 1994, 75, 844 - 853.
168. Shigematsu H.: Histological grading and staging of IgA nephropathy. *Pathol Int* 1997, 47, 194 - 202.
169. Shigematsu H.: Multiplicity of histopathologic renal lesions in IgA nephropathy: Retrospective analysis of histologic grade and stage in serial biopsy specimens. *Clin Exp Nephrol* 1998, 2, 137 - 141.
170. Shigematsu H., Yamaguchi N., Koyama A.: Glomerulointerstitial events in rapidly progressive nephritic syndrome, with special reference to histologic grade and stage on the renal biopsy. *Clin Exp Nephrology* 1998, 2, 330 - 338.
171. Shimamura T., Morrison A. B.: A progressive glomerulosclerosis occurring in partial five - sixths nephrectomized rats. *Am J Pathol* 1975, 79, 95 - 101.
172. Shimokama T., Haraoka S., Horiguchi H., Sugiyama F., Murakami K., Watanabe T.: The Tsukuba hypertensive mouse (transgenic mouse carrying human genes for both renin and angiotensinogen) as a model of human malignant hypertension: development of lesions and morphometric analysis. *Virchows Arch* 1998, 423, 169 - 175.
173. Sheerin N. S., Springall T., Carroll M., Sacks S. H.: Altered distribution of intraglomerular immune complexes in C3-deficient mice. *Immunology* 1999, 97, 393 - 399.
174. Seron D., Alexopoulos E., Raftery M. J., Hartley B., Cameron J. S.: Number of interstitial capillary cross - sections assessed by monoclonal antibodies: relation to interstitial damage. *Nephrol Dial Transplant.* 1990, 5, 889 - 893.
175. Seron D., Moreso F., Gratin C., Vitria J., Condom E., Grinyo J. M., Alsina J.: Automated classification of renal interstitium and tubules by local texture analysis and a neural network. *Anal Quantit Cytol Histol* 1996, 18, 410 - 419.

176. Sinniah R., Khan T. N.: Renal tubular basement membrane changes in tubulointerstitial damage in patients with glomerular diseases. *Ultrastruct Pathol* 1999, 23, 359 - 368.
177. Soma J., Ootaka T., Sato H., Ito S., Saito T.: Tubulointerstitial changes are less important in membranoproliferative glomerulonephritis than in IgA nephropathy. *Nephron* 2000, 86, 230 - 231.
178. Strutz F., Neilson E. G.: The role of lymphocytes in the progression of interstitial disease. *Kidney Int* 1994, 45, S106 - S110.
179. Sulikowska-Rowińska A., Małydk J., Fiejka E.: Comparison of various methods for detecting immune complexes in renal glomeruli in bioptic material. XV Zjazd Polskiego Towarzystwa Patologów., Kraków, 21 - 23 czerwiec 2001. Streszczenie w: *Pol J Pathol* 2001, 52, 94.
180. Takazoe K., Foti R., Tesch G. H., Hurst L. A., Lan H. Y., Atkins R. C., Nikolic-Paterson D. J.: Up-regulation of the tumor-associated marker CD44V6 in experimental kidney disease. *Clin Exp Immunol* 2000, 121, 523 - 532.
181. Taskapan H., Oymak O., Dogukan A., Özbakir Ö., Utas C.: Transformation of hepatitis B virus - related membranous glomerulonephritis to crescentic form. *Clin Nephrol* 2000, 54, 161 - 163.
182. Ting R. H., Kristal B., Myers B.: The biophysical basis of hypofiltration in neprotic humans with membranous nephropathy. *Kidney Int* 1994, 45, 390 - 397.
183. Tomson C. R. V.: Nephrology (clinical review: recent advances). *BMJ* 2000, 320, 98 - 101.
184. Toth T., Takebayashi S.: Idiopathic membranous glomerulonephritis: a clinicopathologic and quantitative morphometric study. *Clin Nephrol* 1992, 38, 14 - 19.
185. Tracy R. E.: Blood pressure related separately to parenchymal fibrosis and vasculopathy of the kidney. *Am J Kidney Dis* 1992, 20, 124 - 131.
186. Tracy R. E.: Renovasculopathies of hypertension and the rise of blood pressure with age in blacks and whites. *Semin Nephrol* 1996, 16, 126 - 133.
187. Tracy R. E., Berenson G. S., Cueto-Garcia L., Wattigney W. A., Barret T. J.: Nephrosclerosis and aortic atherosclerosis from age 6 to 70 years in the United States and Mexico. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1992, 420, 479 - 488.
188. Tracy R. E., Duran M. V., Heigle T., Oalman M. C.: Two variants of nephrosclerosis separately related to age and blood pressure. *Am J Pathol* 1988, 131, 270 - 282.
189. Tracy R. E., Ishii T.: What is 'nephrosclerosis'? Lessons from the US, Japan, and Mexico. *Nephrol Dial Transplant* 2000, 15, 1357 - 1366.
190. Tracy R. E., Malcolm G. T., Oalman M. C., Newman W. P., Guzman M. A.: Nephrosclerosis, glycohemoglobin, cholesterol, and smoking in subjects dying of coronary heart disease. *Mod Pathol* 1994, 7, 301 - 309.
191. Tsuge T., Shimokawa T., Horikoshi S., Tomino Y., Ra C.: Polymorphism in promoter region of Fc α receptor gene in patients with IgA nephropathy. *Hum Genet* 2001, 108, 128 - 133.
192. Wągrowaska - Danilewicz M., Danilewicz M., Sikorska B.: Glomerular and interstitial renal findings in patients with liver cirrhosis, with normal renal function. The histomorphometric study. *Gen Diagnost Pathol* 1996, 141, 353 - 357.
193. Wehrmann M., Bohle A., Bogenschultz O., Eissele R., Freislederer A., Ohlschlegel C., Schumm G., Batz C., Gartner H. - V.: Long term prognosis of chronic idiopathic membranous glomerulopathy. An analysis of 334 cases with particular regard to tubulo - interstitial changes. *Clin Nephrol* 1989, 31, 67 - 76.
194. Wenzel U. O., Wolf G., Thaiss F., Helmchen U., Stahl R. A. K.: Renovascular hypertension does not influence repair of glomerular lesions induced by anti-thymocyte glomerulonephritis. *Kidney Int* 2000, 58, 1135 - 1147.
195. Widstam - Attorps U., Berg U., Bohman S. O., Lefvert A. K.: Proteinuria and renal function in relation to renal morphology. A clinicopathological study of IgA nephropathy at the time of kidney biopsy *Clin Nephrol* 1992, 38, 245 - 253.
196. Wilkosz K.: Rokowanie w zespole nerczycowym pierwotnym u dzieci na podstawie badań morfometrycznych i ultrastruktury nerki. Praca doktorska - w maszynopisie.
197. Więcek A., Kokot F., Strzelczyk P., Witkiewicz J., Karkoszka H., Chudek J., Irzyniec T., Klimek D.: Zależność pomiędzy obrazem histopatologicznym biopiatu nerki, a profilem zmian proteinogramu i lipidogramu surowicy oraz proteinurią u chorych z zespołem nerczycowym spowodowanym przelekłym kłębuszkowym zapaleniem nerek. *Pol Arch Med Wewn* 1993, 90, 426 - 432.

198. Woźniak A., Kaczmarek E., Salwa - Żurawska W., Bortkiewicz E., Maciejewski J., Krzymański M.: Morphometric analysis in the diagnosis and differentiation of certain glomerulopathies (MCD, GNMES, FSG). *Pol J Pathol* 1994, 45, 187 - 193.
199. Woźniak A., Bortkiewicz E., Salwa-Żurawska W., Kaczmarek E., Maciejewski J.: The Application of electron-microscopic morphometry as the helpful method in the diagnosis of focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) early phase. II Clinical usefulness of electron-microscopic studies in cases of minimal change disease (MCD) and of mesangioproliferative glomerulonephritis (GNMES) suspected of being progressing into focal segmental glomerulosclerosis. *Pol J Pathol* 2001, 52, 37 - 46.
200. Woźniak A., Salwa-Żurawska W., Kaczmarek E.: Is there any relationship between interstitial fibrosis and early glomerular sclerosis? Results of light and electron microscopic morphometric studies. XV Zjazd Polskiego Towarzystwa Patologów, Kraków, 21 - 23 czerwiec 2001. Streszczenie w: *Pol J Pathol* 2001, 52, 101.
201. Woźniak A., Salwa-Żurawska W., Kaczmarek E., Bortkiewicz E., Gładysz J., Maciejewski J.: The Application of electron-microscopic morphometry as the helpful method in the diagnosis of focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) early phase. I. Morphometric electron-microscopic studies of renal glomeruli from cases of focal segmental glomerulosclerosis (FSGS), minimal change disease (MCD) and mesangioproliferative glomerulonephritis (GNMES) in children. *Pol J Pathol* 2001, 52, 27 - 36.
202. Wrzołkowska T., Schramm K., Tukaj C., Marczak E., Kraszpulski M.: Interstitial tissue fraction. The prognostic marker in membranoproliferative glomerulonephritis in children. *Anal Quant Cytol Histol* 1997, 19, 8 - 12.
203. Wu T. - H., Tsai C. - Y., Yang W. - C.: Excessive expression of the tumor necrosis factor - a gene in the kidneys of patients with membranous glomerulonephritis. *Chin Med J (Taipei)* 1998, 61: 524 - 530.
204. Wu T. - H., Wu S. - C., Huang T. - P., Yu C. - L., Tsai C. - Y.: Increased excretion of tumor necrosis factor alpha and interleukin 1b in urine from patients with IgA nephropathy and Shoenlein - Henoch purpura. *Nephron* 1996, 76, 79 - 88.
205. Yamamoto T., Watanabe T., Ikegaya N., Fujigaki Y., Matsui K., Masaoka H., Nagase M., Hishida A.: Expression of types I, II and III TGF - β receptors in human glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1998, 9, 2253 - 2261.
206. Yasuda M., Miwa A., Kitagawa M.: Morphometric studies of renal lesions in Itai - Itai disease: chronic cadmium nephropathy. *Nephron* 1995, 69, 14 - 19.
207. Young E. W., Ellis C. N., Messana S. M., Johnson K. J., Leichtman A., Mihatsch M. J., Hamilton T. A., Groisser D. S., Fradin N. S., Voorhees J. J.: A prospective study of renal structure and function in psoriasis patients treated with cyclosporin. *Kidney Int* 1994, 46, 1216 - 1222.
208. Zachariae H., Hansen H. E., Sogaard H., Olsen S.: Kidney biopsies in methotrexate - treated psoriatics. *Dermatologica* 1990, 181, 273 - 276.
209. Zidar N., Ferluga D., Volavsek M., Vizjak A., Luzar S., Kveder R.: Renal extraglomerular vascular immune deposits in IgA glomerulonephritis. *Kidney Int* 1992, 42, 1444 - 1449.
210. Zoch-Zwierz W., Wasilewska A., Biernacka A., Tomaszewska B., Winiecka W., Wierciński R., Popowski T.: Przebieg popaciorkowcowego kłębuszkowego zapalenia nerek w zależności od sposobu leczenia poprzedzającego zapalenia dróg oddechowych. *Wiad Lek* 2001, 54, 56 - 63.

