

А.Н. Евсеев, Н.Г. Плехова, А.А. Евсеева

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА ПРИ ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

УДК 616.33-076-018:616.61-002.151

В работе исследованы гастробиоптаты при геморрагической лихорадке с почечным синдромом в разгар заболевания при помощи непрямого иммуномечения на вирусный антиген с использованием лазерной сканирующей конфокальной и электронной микроскопии. Отмечены выраженные дистрофические и некротические изменения клеток в сочетании с признаками очаговой гиперплазии покровно-ямочного эпителия и началом переключения дифференцировки эпителиальных клеток в сторону мукоцитов на фоне усиленной пролиферации эпителия в сочетании с ослаблением дифференцировки более высокоспециализированных клеток (главных и обкладочных). Выявлено наличие ультраструктурных вирусспецифических включений в клетках и их связь с адаптивной перестройкой СОЖ.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, иммунофлуоресценция, иммуноэлектронная микроскопия, слизистая оболочка желудка, эрозии, острые язвы, эндотелий, макрофаги.

Gastric biopsy specimens in acute hemorrhagic fever with renal syndrome cases were examined using indirect immunolabeling of the viral antigen assisted by confocal laser scanning and electron microscopy. Degenerative and necrotic cellular changes combined with signs of focal hyperplasia of gastric focal epithelium and incipient shift of epithelial differentiation towards mucocytes to the profound epithelial proliferation combined with poor differentiation of highly specialized cells (chief and parietal cells) were revealed. Ultrastructural virus-specific inclusions in the cells were found and dependence thereof on the adaptive rearrangement of gastric mucosa was established.

Key words: Hemorrhagic fever with renal syndrome, immunofluorescence, immunoelectron microscopy, gastric mucosa, erosions, acute ulcers, endothelium, macrophages.

В патогенезе геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) ведущим звеном является генерализованное поражение микрососудов с повреждением различных тканей, органов и последующим развитием воспалительно-репаративных процессов (1–4). Морфологическое изучение механизмов повреждения слизистой оболочки желудка (СОЖ) при ГЛПС до настоящего времени не проводилось. Практически отсутствуют сведения о состоянии различных отделов СОЖ на основе комплексной морфологической оценки с применением иммуноэлектронной микроскопии.

Цель исследования – дать комплексную морфологическую оценку изменений в СОЖ при ГЛПС в разгар болезни и установить их взаимосвязь с наличием антигена в различных клетках.

Материал и методы исследования. Гастробиоптаты 10 больных с ГЛПС, полученные в сроки от 6 до 14

сут от начала клинической манифестации ГЛПС по поводу расстройств с гастродуоденальной симптоматикой, фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и заливали в парафин. Серийные срезы окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином, нейтральные мукополисахариды выявляли PAS-реакцией, кислые – альциановым синим с докраской ядер гематоксилином. Кроме того использовалась иммунофлуоресценция при помощи лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, иммуноэлектронная микроскопия биоптатов. Гастробиоптаты исследовались с помощью электронного микроскопа JEM-100S (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ в режиме дифракционного контраста.

Результаты и обсуждение. На нашем материале у больных ГЛПС в различные сроки заболевания при гастроскопии в области тела, кардиального и антрального отделов желудка выявлялось утолщение слизистой оболочки за счет гиперемии и отека. Местами складки рельефные

с мелкоточечными кровоизлияниями, острыми эрозиями и язвами. При световой микроскопии изменения в желудке носили диффузный характер, захватывали поверхностные и глубокие слои. Преобладали дистрофические изменения и некрозы преимущественно поверхностных эпителиальных структур, очаговые кровоизлияния в строму (рис.1). Эпителий желудочных валяков и ямочный эпителий представлен высокими цилиндрическими клетками с пикноти-

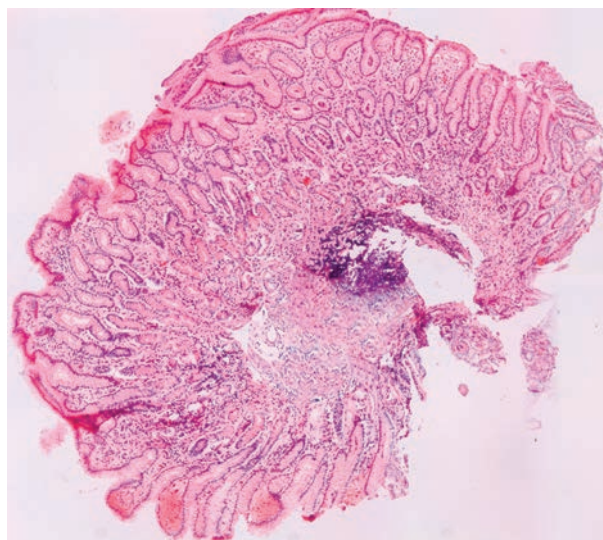


Рис. 1. Общий вид биопсированного фрагмента слизистой оболочки желудка: множественные поверхностные кровоизлияния, дистрофические и некротические изменения ямочно-шеечного эпителия, отек стромы. Длительность заболевания 7 дней. Окраска гематоксилином и эозином, х 80

ЕВСЕЕВ Алексей Николаевич – к.м.н., зав. курсом патологической анатомии ГБОУ ВПО «Дальневосточный государственный медицинский университет» МЗ РФ, alexevseyev@yandex.ru; **ПЛЕХОВА Наталья Геннадьевна** – д.б.н., зав. Центральной науч.-исслед. лаб. ГБОУ ВПО «Тихоокеанский медицинский университет» МЗ РФ, pl_nat@hotmail.com; **ЕВСЕЕВА Алена Алексеевна** – ст. лаб. Дальневосточного гос. мед. ун-та.

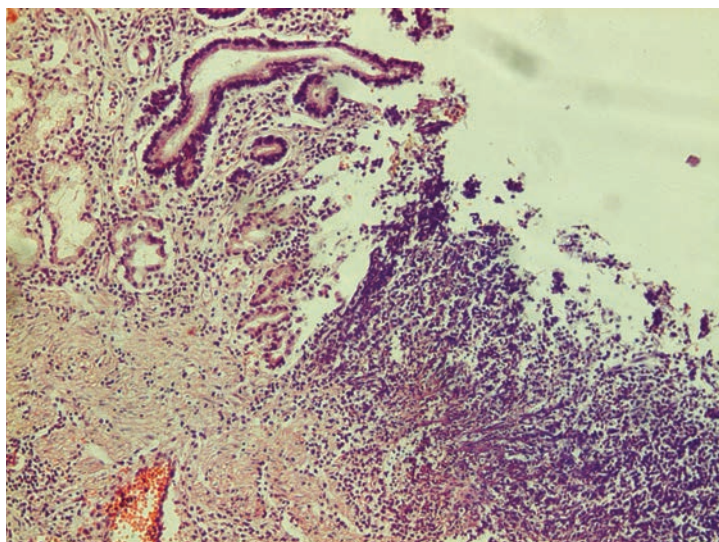


Рис. 2. Повышенная продукция муцина в слизистой оболочке желудка. Биопсия. Длительность заболевания 9 дней. ШИК-реакция, х 100

ческими ядрами, располагающимися в базальной части. В поверхностно-ягодном эпителии найдены признаки гиперсекреции: значительный слой ШИК-позитивного муцина, который располагался на поверхности клеток (рис.2).

В цитоплазме клеток желудочных ямок встречались альцианофильные гранулы, содержащие гликозаминогликаны. В собственном слое слизистой оболочки желудка выявлялись отек стромы, гиперемия и стазы в микроциркуляторном русле, очаговые кровоизлияния, полиморфно-клеточная инфильтрация.

Микроскопическое исследование: дно эрозий покрыто слизью и фибрином, инфильтрировано ПМЯЛ. Кроме того, выявляется гиперемия сосудов, стазы, сладжи эритроцитов с микроtromбами в микрососудах стромы.

Острые язвы выглядят как овальные дефекты слизистой оболочки, дно их серовато-красное, в отдельных язвах видны аррозированные сосуды. При гистологическом исследовании дно язв представляло собой некротические массы, пропитанные фибрином и инфильтрированные полиморфно-ядерными нейтрофилами. Под некротическими массами обнаруживались зоны фибриноидного некроза, грануляционной ткани (рис.3).

При использовании конфокальной микроскопии в эпителии и эндотелии капилляров СОЖ обнаруживалось крупногранулярное специфическое свечение, характеризующее наличие хантавирусного антигена (рис. 4).

Электронно-микроскопическое исследование в гастробиоптатах

обнаружило дистрофические изменения клеток поверхностного эпителия СОЖ. Мукоциты утрачивали микроворсинки, всю апикальную поверхность занимали вакуоли, оттесняющие гранулы мукоида и ядро на периферию, клетки были перегружены зрелым мукоидом с дистрофическими изменениями (рис.5).

При ультраструктурном исследовании гастробиоптатов в клетках макрофагального типа выявлялась положительная реакция на наличие хантавирусного антигена. Частицы включения хантавируса выявлены в участках цитоплазмы с повышенным содержанием рибосом и наличием большого количества цистер эндоплазматической сети (рис.6). В цитоплазме мукоцитов, макрофагов выявлены плотные виропласты, структуры с двуслойной мембраной, а также пластинчатые образования.

Отмечались кламатозные выросты на поверхности эпителия, расширение

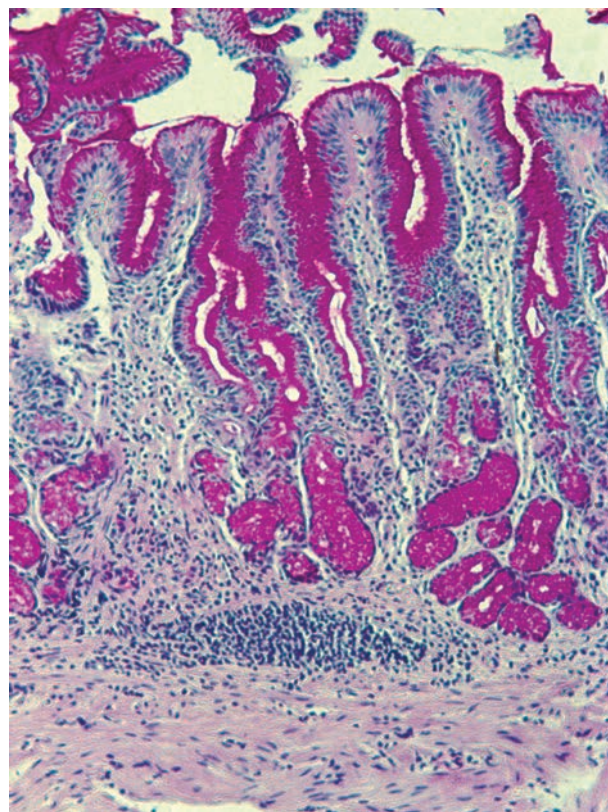


Рис. 3. Острая язва желудка: зона фибриноидного некроза проникает до мышечной оболочки, обильная инфильтрация ПМЯЛ, отек стромы, полнокровие и стазы в сосуде. Биопсия. Длительность заболевания 10 дней. Окраска гематоксилином и эозином, х 100

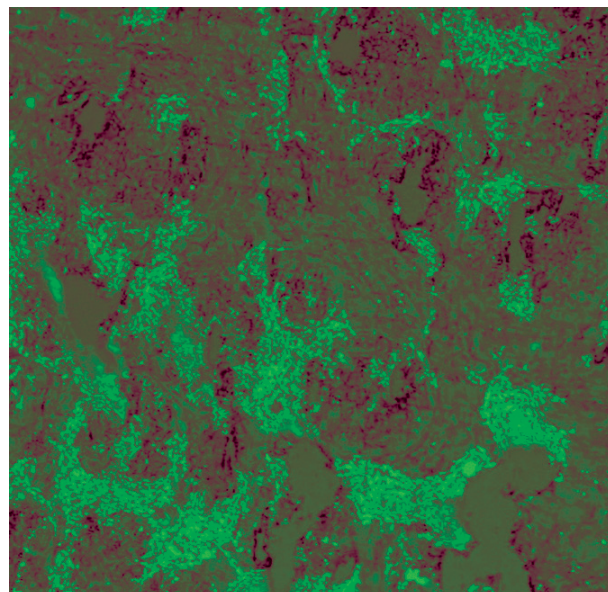


Рис. 4. Гранулярная специфическая люминесценция антигена хантавируса в х эпителиальных и эндотелиальных клетках СОЖ. Гастробиоптат. Длительность заболевания 7 дней. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия. НМФА, х 1000

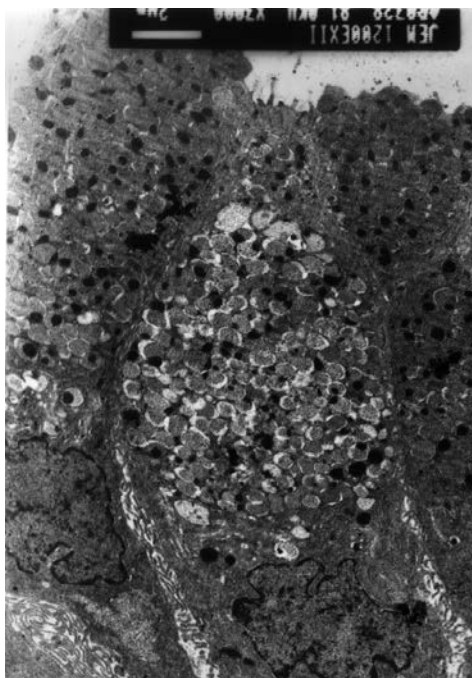


Рис. 5. Слизистая оболочка желудка: свободная поверхность мукоцитов содержит единичные микроворсинки, плотно прилегающие секреторные гранулы, расположенные в апикальной части с деструктивными изменениями. Биопсия. Длительность заболевания 7 дней. Электронограмма, $\times 3000$

эндоплазматического ретикулума, вакуолизация митохондрий с разрывом плазматических мембран. Вакуолизированные клетки встречались на вершине валиков и на боковых поверхностях желудочных ямок, в

глубине крист. Часть клеток утрачивала микроворсинки и десмосомы, отделялась от соседних клеток эпителиального пласта. Хроматин часто конденсировался в плотные крупные массы, нередко ядра клеток подвергались конденсации, напоминали апоптозные тельца. Межклеточные пространства были расширены, в них располагались полинуклеарные лейкоциты, лимфоциты, макрофаги.

В цитоплазме главных клеток отмечены участки как более низкой, так и более высокой электронной плотности, с большим количеством разнокалиберных вакуолей. Количество структур шероховатого эндоплазматического ретикулума было несколько уменьшено, ядра приобретали неправильную форму, имели складчатую поверхность, вблизи ядерной оболочки – скопления хроматина. В цитоплазме также обнаружены плотные виропласты, структуры с двуслойной мембраной, пластинчатые и трубчатые образования.

В ультраструктурной организации обкладочных клеток отмечались запустевание апикальной части цитоплазмы, утрата микроворсинок, появление инвагинатов во внутриклеточных канальцах, наличие вирусиндуцированных структур, увеличение числа лизосом и аутофагосом, просветление матрикса, редукция крист митохондрий и расширение

зоны межклеточных контактов.

В собственной пластинке СОЖ выявлялись клеточные инфильтраты из плазматических клеток, лимфоцитов, нейтрофильных полинуклеарных лейкоцитов и эритроциты. Эндотелиальные клетки кровеносных сосудов набухшие, с признаками виллезной трансформации, расширением гранулярного эргастоплазматического ретикулума (ЭПР), деструкцией митохондрий, со скоплением миелопоподобных структур, в просветах сосудов – эритроциты, макрофаги с вирусоподобными включениями.

Проведенное исследование свидетельствует о том, что в разгар ГЛПС в СОЖ преобладают альтеративные ультраструктурные изменения клеток в сочетании с признаками очаговой гиперплазии покровно-ямочного эпителия и началом переключения дифференцировки эпителиальных клеток в сторону мукоцитов на фоне усиленной пролиферации эпителия в сочетании с ослаблением дифференцировки более высокоспециализированных клеток (главных и обкладочных). Выявлено наличие ультраструктурных вирусспецифических включений в клетках и их связь с адаптивной перестройкой СОЖ.

Литература

1. Геморрагическая лихорадка на Дальнем Востоке СССР / А.И. Зеленский, Г.С. Ковальский, А.А. Константинов [и др.]. – Хабаровск, 1979. – 110 с.
GemorrageskayalikhoradkanaDalnemVostokeSSSR / A.I. Zelenskiy, G.S. Kovalskiy, A.A. Konstantinov [et al.]. – Khabarovsk, 1979. - P. 110.
2. Евсеев А.Н. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом. Пато- и морфогенез, макро- и микроскопическое исследование / А.Н. Евсеев. – Хабаровск: ООО «Омега-Пресс», 2010. – 296 с.
EvseevA.N. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. Patho- and Morphogenesis, Macro- and Microscopic Study. - Khabarovsk: Omega-Press, 2010.- P. 296.
3. Каминский Ю.В. Клиническая морфология инфекционных заболеваний в Приморье / Каминский Ю.В.; под ред. О.Г. Полушина. – Владивосток: Медицина ДВ, 2011. – 216 с.
Kaminskiy Yu.V. Clinical Morphology of Infectious Diseases in Primorye / Yu.V. Kaminskiy.; edit. by: O.G. Polushina. - Vladivostok: Meditsina DV, 2011. – P. 216.
4. Сиротин Б.З. Очерки изучения геморрагической лихорадки с почечным синдромом / Б.З. Сиротин. – Хабаровск: РИОТИП, 2005. – 194 с.
Sirotnin B.Z. Essays of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Study / - Khabarovsk: RIOTIP, 2005, - P. 194.

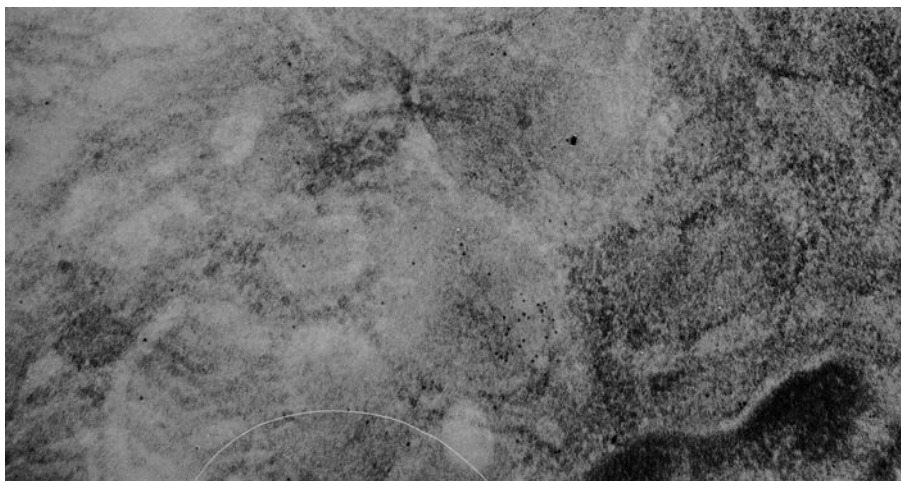


Рис. 6. Клетка макрофагального типа в гастробиоптате больного ГЛПС. Определяется хорошо развитая эндоплазматическая сеть, конденсация хроматина около ядерной мембраны и вирусспецифические структуры (ВС) с положительной реакцией на наличие вирусного антигена ($\times 50000$)