

СОВРЕМЕННЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ФИБРИЛЛЯРНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА И АМИЛОИДНОГО НЕФРОЗА

Шаймарданова Г.М., Федотовских Г.В., Туганбекова С.К., Смагулова А.К.

АО «Национальный научный медицинский центр» Астана, Казахстан

Абстракт

В статье представлено комплексное морфологическое исследование больных с хроническим гломерулонефритом, были диагностированы заболевания почек с наличием фибриллярных депозитов. При амилоидном нефрозе отложения депозитов были Конго – рот положительны и характеризовались электронномикроскопически наличием фибрилл с диаметром около 10 нм. При иммунофлуоресцентном исследовании наблюдалось слабое окрашивание Ig A, Ig G, Ig M, тяжелых цепей карра и комплементов C3 и C1q. Отмечалось диффузное линейное и гранулярное свечение легких цепей lambda и гранулярно линейное свечение fibrinogena. При фибриллярном хроническом гломерулонефрите реакция Конго – рот была отрицательна, при этом электронномикроскопически были обнаружены отложения фибрилл диаметром около 12,5 нм и более. При иммунофлуоресцентном исследовании в капиллярах клубочков и интерстиции были обнаружены яркие отложения Ig G, легких цепей lambda и менее яркие - Ig A, тяжелых цепей карра и фибриногена. Морфологическое исследование ткани почек больных с хроническим гломерулонефритом и амилоидным нефрозом, имеющими отложения депозитов в виде фибрилл, требует комплексной диагностики с использованием современных методов исследования.

Ключевые слова: фибриллярный гломерулонефрит, амилоидный нефроз, диагностика, фибриллярные отложения депозитов.

Введение

Общеизвестно, что для ряда заболеваний почек, а именно амилоидного нефроза, фибриллярного и иммунотактоидного хронического гломерулонефрита, важным морфологическим признаком накопления полимеризующихся белков, является наличие фибриллярных или трубчатых депозитов. При впервые описанном в 1977 году [1] фибриллярном гломерулонефрите электронномикроскопически были выявлены депозиты, состоящие из хаотически расположенных фибрилл диаметром 10 nm [2]. Данная патология получила название «амилоидоподобной» нефропатии, так как отложения депозитов не воспринимали окраску Конго-рот. Необходимой особенностью диагностики заболеваний почек является комплексное диагностическое светооптическое, иммунофлуоресцентное и электронномикроскопическое исследование. В связи с тем что, фибриллярный гломерулонефрит и иммунотактоидная нефропатия относятся к заболеваниям, диагностируемым только с помощью электронной микроскопии, приобретение в клинике АО «ННМЦ» электронного микроскопа Libra 120 «C. Zeiss» позволило использовать его в диагностике довольно редко встречаемой данной патологии.

Цель исследования: улучшение диагностики хронических гломерулонефритов с отложениями фибриллярных депозитов

Материалы и методы

Для гистологических и гистохимических исследований ткань почек фиксировалась в 10% растворе нейтрального формалина, затем заливалась в парафин по общепринятой методике. С парафиновых блоков изготавливались срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашивались гематоксилином и

эозином, Массон – трихромом, Конго – рот, PAS и серебром. Иммунофлуоресцентные исследования проводились по общепринятой методике и окрашивались антителами FITC. Микроскопия осуществлялась на светооптических системах «AxioStar» и «Axioskop-40» фирмы «C. Zeiss». Для электронномикроскопического исследования биопсийные кусочки ткани почек фиксировали в 2,5 % растворе глутаральдегида с постфиксацией в 1% растворе четырехоксида осмия, проводились по общепринятой методике и заключались в эпон. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме Leica. Полутонкие срезы окрашивались метиленовым синим, азуром 2 и основным фуксином (С. Humphrey, F. Pittman, 1974). Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу, исследовали и сохраняли в электронном микроскопе Libra 120 (C. Zeiss).

Результаты

При гистологическом исследовании препаратов почек с амилоидным нефрозом определялись клубочки овальной формы и неодинаковой величины. Наблюдалась слабая мезангиальная пролиферация, сосудистые петли трудно просматривались. Во всех клубочках отмечалось отложение белковых масс в стенке сосудов, в капиллярных петлях и в мезангии, лапчатость, увеличение большей части клубочков в размере (рисунок 1). Наблюдалось расширение мочевого пространства, уменьшение в размере, слияние белковых масс с капсулой Шумлянско-Боумэна. В единичных клубочках в мочевом пространстве серозное содержимое, лимфоциты и утолщение капсулы Шумлянско-Боумэна.

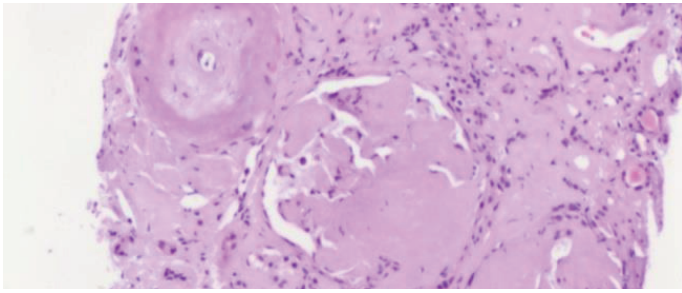


Рисунок 2 - Отложение белковых масс в стенке сосудов, в капиллярных петлях и в мезангии. Окраска гематоксилином и эозином. X100

В проксимальных и дистальных канальцах признаки белковой гиалиново-капельной дистрофии, атрофии и отека эпителия канальцев. В просвете канальцев определяются белковые массы и эритроциты, базальная мембрана пронизана белковыми массами. Отмечался очаговый умеренный фиброз, выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация межтубулярной ткани, в интерстиции в большом количестве белковые массы. Наблюдалось утолщение стенки сосудов, в их просвете – эритроциты, единичные лимфоциты.

Гистохимическая реакция по Массон трихром была положительной – участки кирпично-красного окрашивания располагались в сосудистых петлях клубочков. Белковые массы в клубочках и соединительнотканые волокна окрашены в красно-оранжевый и синий цвет. Базальная мембрана канальцевого эпителия и межтубулярная ткань окрашены в синий цвет (рисунок 2). Гистохимическая реакция с солями серебра – белковые массы окрашены в коричневый и темно-коричневый цвет. Базальный слой канальцевого эпителия и интерстиций темно-коричневого окрашивания. Стенка сосудов темно-коричневого окрашивания. Гистохимическая PAS-реакция – участки фуксинового цвета располагаются в сосудистых петлях клубочков, базальная мембрана канальцевого эпителия очагово окрашена в розовый цвет. Гистохимическая реакция с Конго красным на амилоид – положительная, отложения белковых масс в клубочках, в строме, в стенке сосудов и на базальной мембране канальцев красновато-оранжевого окрашивания (рисунок 3). При иммунофлуоресцентном исследовании наблюдалось слабое окрашивание Ig A, Ig G, Ig M, тяжелых цепей карра и комплементов C3 и C1q. Отмечалось диффузное линейное и гранулярное свечение легких цепей lambda и гранулярно линейное свечение fibrinogena (рисунок 4).

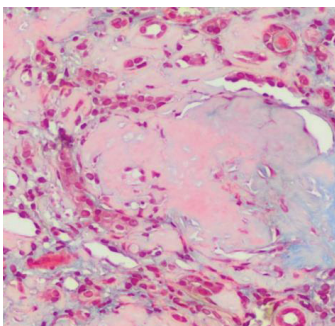


Рисунок 2 - Окрашивание соединительнотканых волокон в клубочке в синий цвет. Окраска Массон-трихром. X200

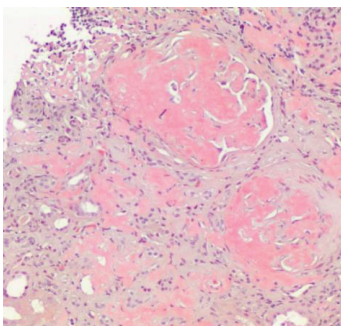


Рисунок 3 - Окрашивание амилоида в клубочках, в строме и в стенке сосудов. Окраска Конго-рот на амилоид. X100

При электронномикроскопическом исследовании сосудистых клубочков ножки подоцитов частично слитые. Базальная мембрана слегка расширена, в центре и под эндотелием изредка электронно-прозрачная. Просвет капилляров расширен, заполнен хлопьевидными массами. Базальная поверхность эндотелия неровная. Мезангиальное пространство резко расширено и заполнено беспорядочно расположенными бледными короткими и тонкими фибриллами диаметром менее 10 нм (рисунок 5). В эпителии проксимальных канальцев крупные электронно-плотные белковые гранулы. В эпителии дистальных канальцев – липидные включения.

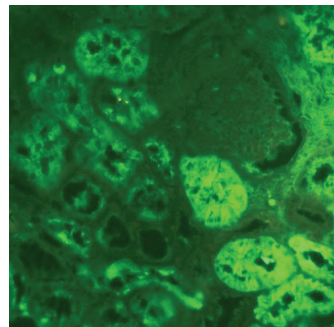


Рисунок 4 - Отложение Ig G в эпителии канальцев. Увеличение 200

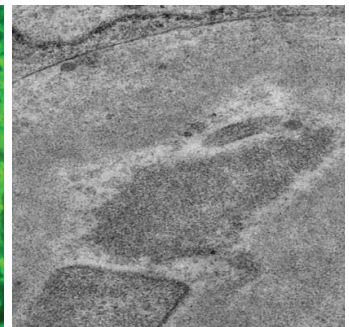


Рисунок 5 - Отложение тонких фибрилл диаметром 10 нм (указание стрелкой). Электроннограмма

Гистологическое и гистохимическое исследование при фибриллярном гломерулонефрите показало наличие депозитов в сосудистых петлях клубочков и расщепление базальной мембраны стенки сосудов. В препаратах почки клубочки несколько увеличены в размерах, с умеренно выраженной клеточностью, полнокровием капилляров, единичными соединительноткаными синехиями, отложениями глыбчатых масс между петлями и пучками (рисунок 6). Между сосудистыми петлями клубочков и капсулой Шумлянско-Боумана в мочевом пространстве большое количество жидкостного содержимого, склероз и отек капсулы. Один из клубочков полностью был замещен бесструктурными массами, сморщен. Белковая дистрофия эпителия канальцев, в просвете фрагментированные фибриноподобные массы, единичные эритроциты. В интерстиции прослеживались прослойки соединительной ткани, единичные лимфогистиоцитарные элементы, а также утолщение и набухание стенки сосудов.

Гистохимическая реакция с конго красным на амилоид была отрицательная (рисунок 7). Гистохимическая реакция по Массон трихром была положительная – депозиты кирпично-коричневого окрашивания располагались в сосудистых петлях клубочков, а соединительнотканые волокна интерстиция на всем протяжении были светло – голубого и синего цвета. Гистохимическая реакция с солями серебра дала светло-коричневое окрашивание базального слоя канальцевого эпителия, мезангиального матрикса клубочков. При гистохимической PAS-реакции выявлены депозиты розового цвета в сосудистых петлях клубочков. При иммунофлуоресцентном исследовании в капиллярах клубочков и интерстиции были обнаружены яркие отложения Ig G, легких цепей lambda и менее яркие - Ig A, тяжелых цепей карра и фибриногена (рисунок 8).

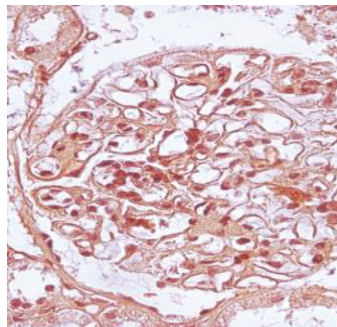
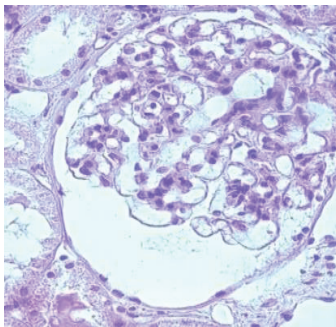


Рисунок 6 - Депозиты располагаются субэпителиально и интрамембранозно в сосудистых петлях клубочков. Окраска гематоксилином и эозином. X 400

Рисунок 7 - Отрицательная окраска на амилоид. Окраска Конго рот. X 400.

При электронномикроскопическом исследовании выявлены фибриллярные депозиты, расположенные субэпителиально и интрамембранозно. Диаметр фибрилл составлял в среднем 12,5 nm (рисунок 9). Ножки подоцитов были сглажены. Комплексное исследование с использованием электронной микроскопии дало возможность диагностировать заболевание - фибриллярный гломерулонефрит.

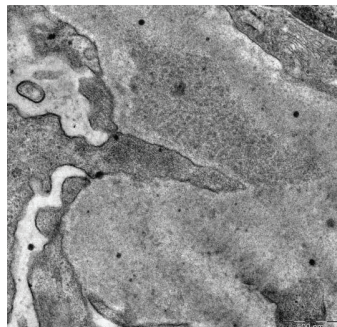
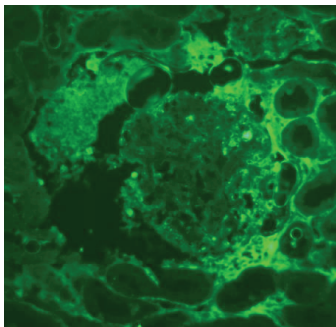


Рисунок 8 - Отложение Ig G в сосудистых петлях клубочков и на базальной мембране канальцев. Увеличение 200

Рисунок 9 - Отложение фибрилл диаметром более 10 nm (указание стрелкой). Электроннограмма

Обсуждение

Решающее значение в точной диагностике основных патологических процессов в биоптатах почек имеет комплексное морфологическое исследование с использованием светооптического, гистохимического, иммунофлуоресцентного и электронномикроскопического методов [3]. Особую значимость приобретает оно при диагностике фибриллярного «амилоидоподобного» хронического гломерулонефрита с отрицательной реакцией на амилоид и депозитами, состоящими из хаотически расположенных фибрилл. Проведенные нами электронномикроскопические исследования подтвердили наличие тонких фибрилл с диаметром около 10 nm и более при фибриллярном гломерулонефрите. Иммунофлуоресцентные исследования соответствовали данным литературы [4] о положительной реакции на иммуноглобулин G и легкие цепи lambda. При амилоидном нефрозе с положительной реакцией на Конго-рот диаметр фибрилл был около 10 nm. При иммунофлуоресцентном исследовании наблюдалось слабое окрашивание Ig A, Ig G, Ig M, тяжелых цепей kappa и компонентов C3 и C1q. Отмечалось диффузное линейное и гранулярное свечение легких цепей lambda и гранулярно линейное свечение fibrinogena.

Выводы

Морфологическое исследование ткани почек больных с хроническим гломерулонефритом и депозитами в виде фибрилл требует комплексной диагностики с использованием гистологического, гистохимического, электронномикроскопического и иммунофлуоресцентного методов исследования.

Литература:

1. Rosenmann E., Eliakim M. Nephrotic syndrome associated with amyloid-like glomerular deposits. *Nephron*. 1977; 18: 301–308.
2. Fogo A.B., Qureshi N., Horn R.G. Morphologic and clinical features of fibrillary glomerulonephritis versus immunotactoid nephropathy. *Am. J. Kidney Dis*. 1993; 22: 367–377.
3. Голицына Е.П., Варшавский В.А., Бочарникова А.В., Рехтина И.Г. Фибриллярный гломерулонефрит и иммунотактоидная нефропатия: современный взгляд на патоморфологический субстрат болезни. *Архив патологии*, 2011, № 3.- С.54-58
4. Agnes B. Fogo M.D., Arthur H. Cohen M.D., J. Charles Jennette M.D., Jan A. Bruijn M.D., Ph.D., Robert B. Colvin M.D. *Fundamentals of Renal Pathology*. ISBN: 978-0-387-31126-5 (Print) 978-0-387-31127-2 (Online). 2007; 174-177.