

DOI: 10.15825/1995-1191-2019-1-82-87

ПОРАЖЕНИЕ ГЛОМЕРУЛЯРНОГО АППАРАТА ПОЧКИ ПРИ ПОЛИОМАВИРУСНОЙ НЕФРОПАТИИ ТРАНСПЛАНТАТА

Ю.Г. Мотин¹, О.В. Омельченко¹, Д.Б. Лохин¹, С.В. Гаппоев², Е.Н. Семенова¹,
А.Ю. Прохожев¹, В.А. Яковлев¹, Е.В. Григоров¹, А.Ю. Грызлов¹, А.Л. Ключев¹

¹ КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, Российская Федерация

² КГБУЗ «Красноярское краевое патолого-анатомическое бюро», Красноярск, Российская Федерация

Представлен случай диагностики полиомавирусной нефропатии трансплантата с вовлечением в патологический процесс структур клубочка. Исследование биопсийного материала проведено с применением иммуногистохимических и электронно-микроскопических методов. Показаны морфологические изменения, возникающие в аллотрансплантате, ультраструктурные характеристики полиомавируса и особенности его распределения в тканевых структурах почки.

Ключевые слова: почечный трансплантат, полиомавирусная инфекция.

THE LESION OF KIDNEY GLOMERULI IN CASE OF POLYOMAVIRUS ALLOGRAFT NEPHROPATHY

Yu.G. Motin¹, O.V. Omelchenko¹, D.B. Lokchin¹, S.V. Gappoev², E.N. Semenova¹,
A.Yu. Prokhozhev¹, V.A. Yakovlev¹, E.V. Grigоров¹, A.Yu. Gryzlov¹, A.L. Klyuev¹

¹ Regional Clinical Hospital, Barnaul, Russian Federation

² Krasnoyarsk Territorial Pathological Anatomy Bureau, Krasnoyarsk, Russian Federation

The article describes a case of diagnosis allograft polyomavirus nephropathy with glomerular involvement. Immunohistochemical and electron microscopic methods were used to exam the transplant kidney biopsies, which showed morphological changes in allograft, ultrastructural characteristics of polyomavirus and features of its spread in kidney tissue structures.

Key words: kidney transplant, polyomavirus infection.

При развитии терминальной хронической почечной недостаточности наиболее оптимальным в настоящее время видом заместительной терапии является аллотрансплантация почки. Значимыми факторами риска нарушения функции трансплантата и его гибели являются острое отторжение (клеточное и гуморальное) и полиомавирусная нефропатия (ПВН) [1, 2].

Наиболее частым вирусным заболеванием, поражающим почечный трансплантат, является полиомавирусная инфекция. Причиной ее развития в подавляющем большинстве случаев является вирус семейства *Papovaviridae* – БК(ВК-)вирус. Значение этого вируса в нарушении функции трансплантата было впервые установлено относительно недавно – около 20 лет назад [3], а вопросы своевременной

диагностики ПВН остаются актуальными вплоть до настоящего времени, что обусловлено большим значением в определении клинического прогноза и выбора терапии. К сожалению, возможности лечения ВК-вирусной инфекции сегодня весьма ограничены: основным направлением терапии ПВН является снижение иммуносупрессии [4], что является диаметрально противоположным принятым схемам лечения острого отторжения [5, 6].

При вирусном поражении трансплантата в нефробиоптатах часто обнаруживаются такие неспецифические признаки, как интерстициальная лимфоцитарная инфильтрация, явления тубулиты, нефросклероз различной степени выраженности [7]. Непосредственными признаками полиомавирусной инфекции, выявляемыми в большинстве случаев

Для корреспонденции: Мотин Юрий Григорьевич. Адрес: 656024, Россия, Барнаул, ул. Ляпидевского, 1. Тел. (3852) 68-93-82. E-mail: ygmotin@gmail.com

For correspondence: Motin Yuri Grigorievich. Address: 1, Lyapidevskiy str., Barnaul, 656024, Russian Federation. Tel. (3852) 68-93-82. E-mail: ygmotin@gmail.com

уже на ранних стадиях, являются изменения ядер, обусловленные репликацией и накоплением вируса, деструкция эпителия канальцев нефронов и собирающих трубок с оголением базальных мембран [8]. В литературе описано 4 типа изменения ядер эпителия, которые можно обнаружить на светооптическом уровне: включение базофильных «матово-стекловидных» телец; эозинофильные включения, окруженные неполным гало; мелкозернистые внутриядерные повреждения без гало; везикулярный вариант со слипающимися внутриядерными вирионами [9]. При этом в цитоплазме клеток и внеклеточно вирусные включения обычно не находят [4, 9].

Поскольку светооптическая картина вирусного поражения трансплантата часто является неспецифичной, решающую роль в диагностике играет иммуногистохимическая (с применением комплементсвязывающих антител и анти-SV-40 антител [8]) и ультраструктурная оценка нефробиоптата. Электронная микроскопия позволяет изучить характер изменений клеточных элементов и тканевых структур, точно визуализировать вирусные включения в тканях. Вирусные включения размером 30–55 нм обычно располагаются в виде кластеров, часто обнаруживаются интрануклеарно. Расположение вирусных частиц в цитоплазме клеток и экстрацеллюлярно фиксируется редко [8]. Типично вирусные включения локализуются в эпителии канальцев и редко в эндотелии перитубулярных капилляров. Почечные тельца, по данным литературы, в большинстве случаев остаются интактными [10]. Поэтому мы сочли возможным представить собственный опыт наблюдения полиомавирусной нефропатии трансплантата с нетипичным, по результатам электронно-микроскопического исследования, расположением вирусных включений в тканевых элементах почки и поражением не только тубулярного, но и гломерулярного аппарата почки.

Больной 25 лет находился в стационаре с диагнозом «хроническая болезнь почек С5Т; наследственный нефрит с тугоухостью (синдром Альпорта) с исходом в нефросклероз; аллотрансплантация трупной почки (правой) в правую подвздошную область; иммуносупрессивная терапия; дисфункция почечного трансплантата».

За 17 месяцев до поступления в стационар выполнена аллотрансплантация трупной почки (правой) в правую подвздошную область. В постоперационный период функция трансплантата отсроченная, олигоанурия 12 суток. В этой связи было проведено 6 сеансов гемодиализа. На 4-е сутки после операции выполнена пункционная биопсия трансплантата, показавшая картину острого канальцевого некроза. Проводилась трехкомпонентная иммуносупрессивная терапия (такролимус + микофеноловая кислота + преднизолон) с индукцией иммуносупрессии базиликсимабом.

В последующем пациент дважды проходил стационарное лечение (через 7 и 14 месяцев после операции) в связи с дисфункцией трансплантата: лабораторно отмечалась эритроцитурия, нарастание азотемии (повышение уровня креатинина крови максимально до 220 мкмоль/л). Концентрация такролимуса находилась в пределах целевых значений. Выполнялось ультразвуковое исследование с доплерографией сосудов трансплантата: явных отклонений не обнаружено, гемодинамически значимых изменений сосудов почечного трансплантата не выявлено. При каждой госпитализации проводили пункционную биопсию трансплантата. Морфологическое исследование нефробиоптата через 7 месяцев после операции показало острое отторжение 1В, морфологические признаки вирусного поражения трансплантата; через 14 месяцев после операции картина была сопоставимой – острое отторжение 1А, интерстициальный нефрит мозгового слоя, возможно вирусное поражение трансплантата. Была назначена диета с ограничением белка, прием кетостерола. Пациент наблюдался амбулаторно у нефролога, отмечалось постепенное нарастание азотемии.

Через 17 месяцев после трансплантации больной госпитализирован с клинико-лабораторной картиной уремической интоксикации (мочевина 37,5 ммоль/л, креатинин 1107 мкмоль/л). В анализах мочи белок 115 мг/л, лейкоциты 750 в 1 мл, эритроциты 750 в 1 мл. По заключению ультразвукового исследования с доплерографией сосудов почечного трансплантата значимых гемодинамических и уродинамических нарушений не выявлено. Концентрация такролимуса в крови соответствует целевому диапазону согласно схеме иммуносупрессии и срокам после трансплантации. По жизненным показаниям начата заместительная почечная терапия методом программного гемодиализа. С целью выяснения причин трансплантационной нефропатии выполнена пункционная биопсия почечного трансплантата.

При гистологическом исследовании клубочки в представленном материале не обнаружены. Отмечались дистрофические и некробиотические изменения канальцевого эпителия, тубулиты до 10 и более лимфоцитов на один срез канальца (рис. 1). В отдельных канальцах обращало на себя внимание наличие эпителиоцитов с крупными базофильными ядрами, превышающими по размеру нормальные в 2–3 раза (рис. 2). Наблюдалось слущивание эпителия с оголением базальной мембраны и расположением фрагментов клеток в просвете канальцев.

Почечный интерстиций характеризовался диффузно-очаговой лимфононуклеарной инфильтрацией с умеренным содержанием нейтрофилов, склеротическими изменениями до 25%, атрофией канальцев. Отмечались склеротические изменения

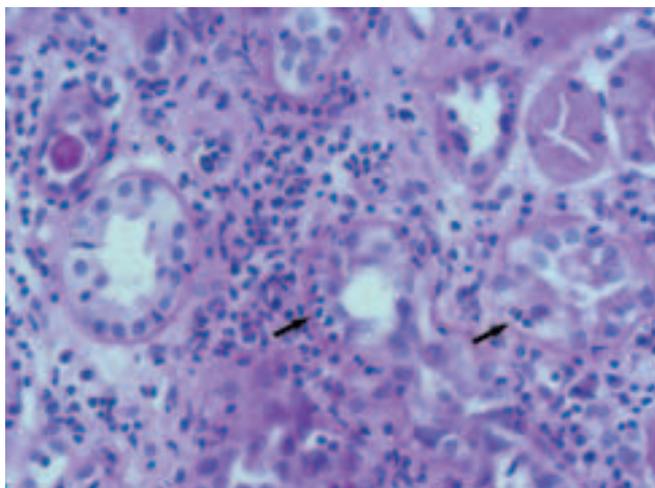


Рис. 1. Лимфоидная инфильтрация интерстиция с проникновением лимфоцитов через базальную мембрану канальцев (стрелки) и развитием тубулита. Окрашивание PAS. ×400

Fig. 1. Lymphoid infiltration in interstitium with lymphocytes penetration through the tubular basal membrane (arrows) and development of tubulitis. PAS staining. ×400

до 15–20% и скудная лимфоидная инфильтрация интимы артерий мышечного типа.

Было проведено прямое иммунофлюоресцентное исследование части одного нефробиоптата с использованием антител к иммуноглобулинам A, M, G, C₃, λ- и κ-легким цепям, C_{1q}, фибриногену, C4d. Реакция с маркерами носила неспецифический характер. Фиксации C4d-фрагмента комплемента на структурах перитубулярных капилляров или других тканевых элементов не отмечалось.

Морфологическая картина давала основания подозревать острое отторжение трансплантата –

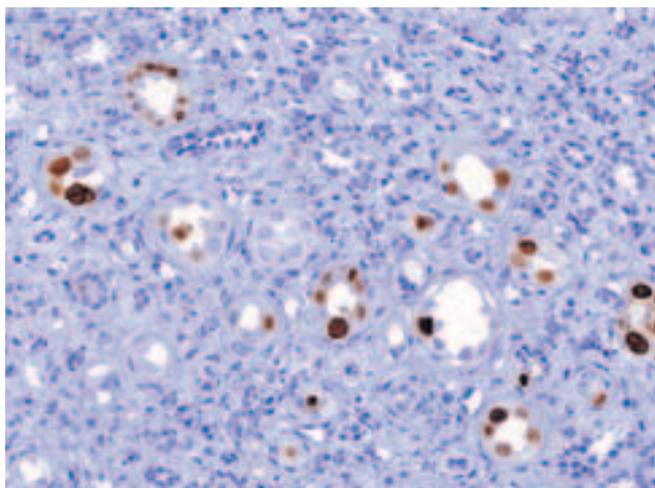


Рис. 3. Выраженная экспрессия SV-40 в ядрах эпителия канальцев. Иммуногистохимическое окрашивание. ×400

Fig. 3. Prominent expression of SV-40 in the tubular epithelium nuclei. Immunohistochemical staining. ×400

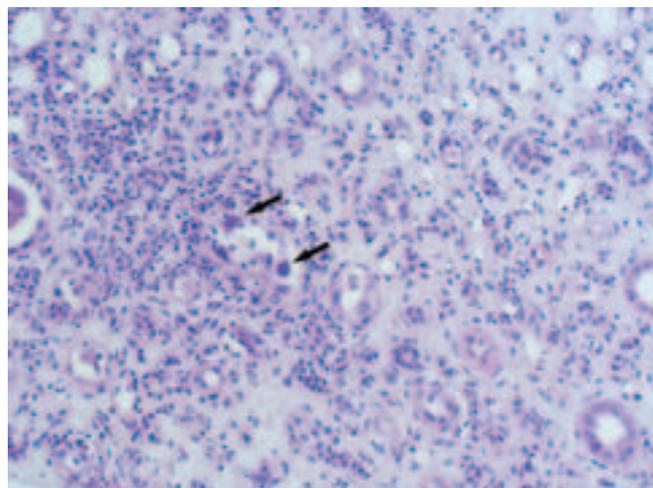


Рис. 2. Крупные ядра отдельных эпителиальных клеток канальцев (стрелки) без типичных морфологических признаков репликации полиомавируса. Окрашивание гематоксилином и эозином. ×200

Fig. 2. Large nuclei of tubular epithelial cells (arrows) without typical morphological features of polyomavirus replication. Hematoxylin and eosin staining. ×200

интерстициальный тип острого отторжения 1B, нефросклероз легкой степени. Наличие эпителиоцитов с крупными гиперхромными ядрами в составе канальцевого эпителия указывало на вероятность вирусного поражения трансплантата. В этой связи было выполнено иммуногистохимическое исследование по стандартному протоколу с первичными антителами к SV-40 (Cell Marque) в автоматическом режиме в иммуностейнере BenchMark ULTRA (Roche Ventana), показавшее выраженную экспрессию маркера в ядрах эпителиоцитов отдельных групп канальцев (рис. 3).

Для ультраструктурного исследования были взяты три фрагмента одного биоптата, содержавшие один клубочек, канальцы нефронов и элементы интерстиция.

После фиксации, обезвоживания материала и заливки в эпон были изготовлены полутонкие срезы. При их исследовании клубочек умеренно увеличен в размерах, капсула с признаками склеротических изменений, эпителий париетального листка капсулы слущен на значительном протяжении. В мочевом пространстве определялись фрагменты клеток. В канальцах обратило на себя внимание наличие скопления своеобразных гроздевидных плотных образований в крупных, увеличенных в размерах ядрах эпителиоцитов. В цитоплазме клеток и субэпителиально, в структуре утолщенной базальной мембраны канальцев также обнаруживались мелкие плотные образования округлой формы (рис. 4).

При электронно-микроскопическом исследовании определялось резко увеличенное в размерах

почечное тельце с расширенными капиллярными петлями. Эндотелий капиллярных петель сохранен, в отдельных петлях умеренно утолщен, количество фенестр снижено. Структура гломерулярной базальной мембраны сохранена, ее толщина в среднем составляла $314,5 \pm 47,22$ нм. Патологические электронноплотные депозиты в структурах клубочка отсутствовали.

Наблюдались признаки повреждения подоцитов: умеренная виллезная трансформация, вакуолизация, липидные капли в цитоплазме; крупные митохондрии с просветлением матрикса и деструкцией крист; отмечалась агрегация элементов цитоскелета (актиновых филаментов) в отростках подоцитов, участки слияния малых отростков подоцитов. В мочевом пространстве определялись немногочисленные эритроциты, обломки клеток, электронноплотное хлопьевидное содержимое. Среди этих структур обнаруживались свободно лежащие и фиксированные на мембранах клеточных фрагментов упорядоченно расположенные в виде кластеров электронноплотные округлые образования размером $39,1 \pm 3,58$ нм (рис. 5). Характерное кластерное расположение, форма и размеры частиц позволили идентифицировать вирусные включения полиомавируса [10].

Наличие ультраструктурных признаков повреждения подоцитов и вирусных включений в мочевых пространствах на фоне отсутствия изменений со стороны мезангия, эндотелия и гломерулярной базальной мембраны клубочка дало основание предпо-

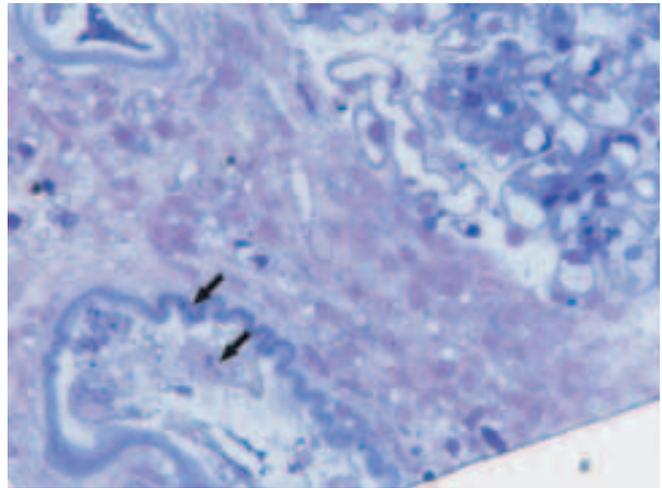


Рис. 4. Склерозирование капсулы почечного тельца. Parietalный эпителий слущен. Базальные мембраны капиллярных петель клубочка ровные, равномерные. Вирусные включения в ядре слущенного эпителиоцита и в утолщенной базальной мембране канальца в виде скопления мелких, плотных округлых образований, окрашенных в темно-синий цвет (стрелки). Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. $\times 400$

Fig. 4. Sclerosis of glomerular capsule. The parietal epithelium is desquamated. Glomerular basal membranes are even, uniform. Viral inclusions are seen in the epitheliocyte nucleus and in the thickened tubular basal membrane as a cluster of small, dense rounded formations stained in dark blue color (arrows). Semi-thin section. Toluidine blue stain. $\times 400$

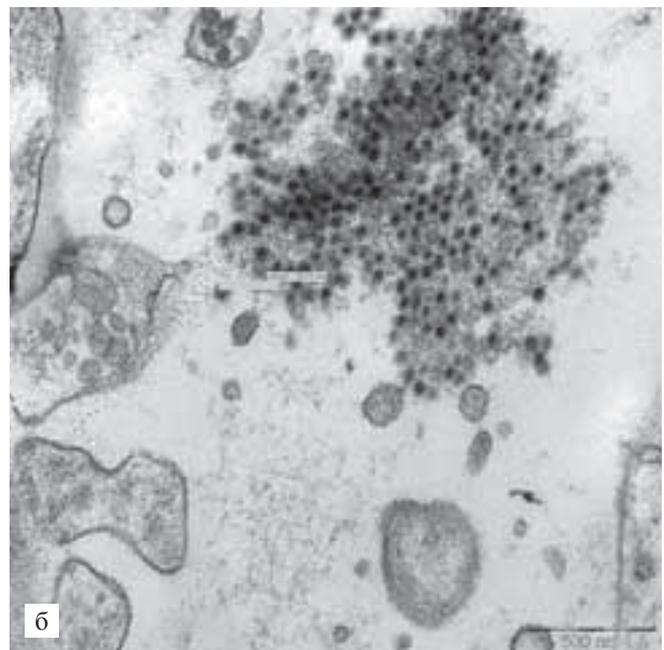
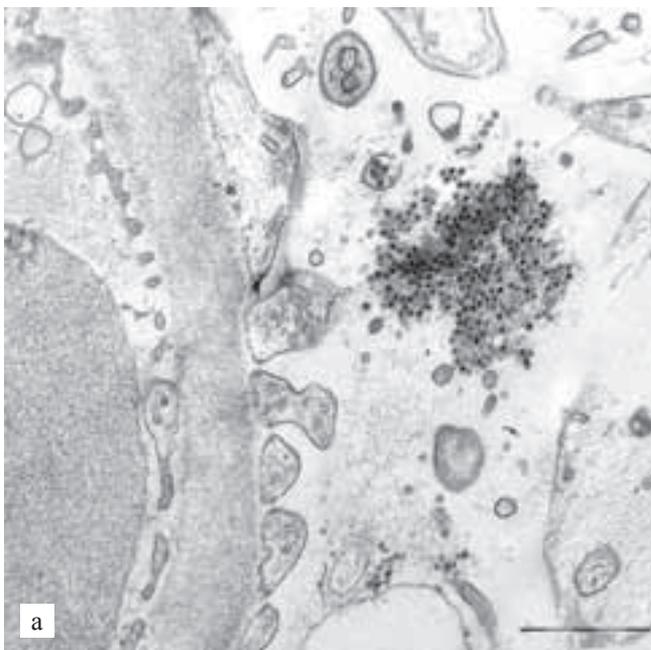


Рис. 5. В мочевом пространстве почечного тельца фрагменты разрушенных клеток, вирусные включения. Контрастирование уранил ацетатом и цитратом свинца; Zeiss, Libra 120: а – $\times 8000$; б – $\times 16\ 000$

Fig. 5. Glomerular urinary space contains fragments of destroyed cells, viral inclusions. Uranyl acetate and lead citrate contrast; Zeiss, Libra 120: a – $\times 8000$; b – $\times 16\ 000$

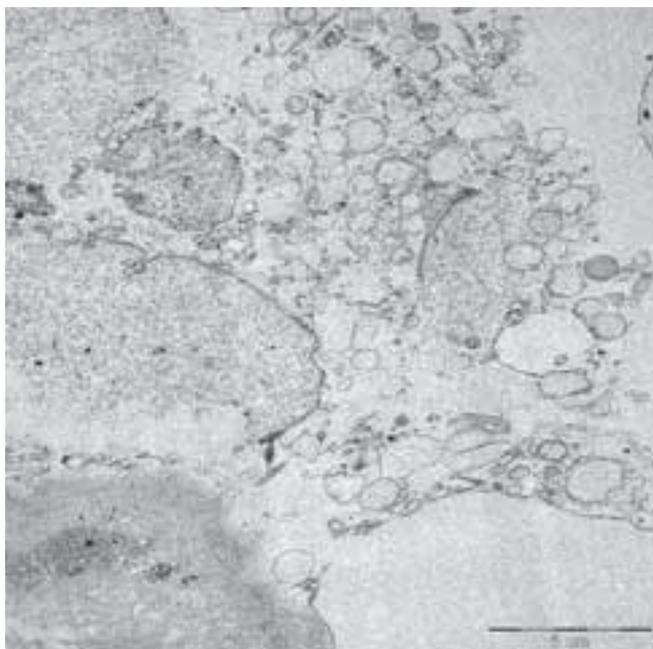


Рис. 6. Некроз и слущивание клеток париетального листка капсулы почечного тельца. Слева внизу – утолщенная капсула. Контрастирование уранил ацетатом и цитратом свинца; Zeiss, Libra 120. ×1985

Fig. 6. Necrosis and desquamation of glomerular parietal epitheliocytes. Bottom left – thickened capsule. Uranyl acetate and lead citrate contrast; Zeiss, Libra 120. ×1985

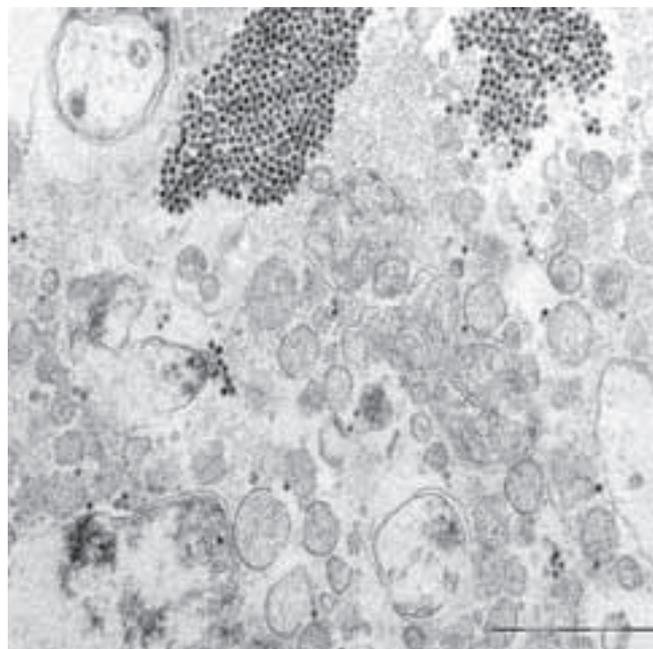


Рис. 7. Кластеры вирусных включений в цитоплазме слущенного эпителиоцита в просвете канальца. Контрастирование уранил ацетатом и цитратом свинца; Zeiss, Libra 120. ×10 000

Fig. 7. Clusters of viral inclusions in the cytoplasm of the desquamated epitheliocyte in the tubular lumen. Uranyl acetate and lead citrate contrast; Zeiss, Libra 120. ×10 000

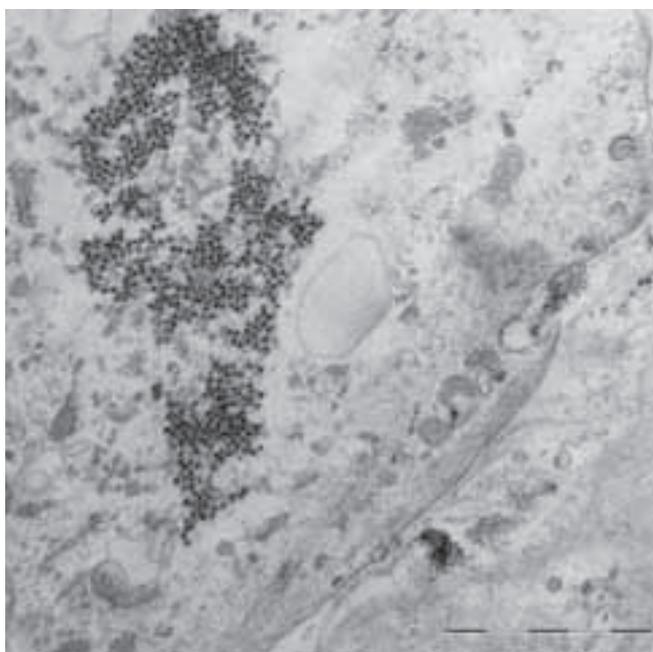


Рис. 8. Кластеры вирусных включений в цитоплазме базального полюса эпителиоцита и в «лакунах» базальной мембраны канальца. Контрастирование уранил ацетатом и цитратом свинца; Zeiss, Libra 120. ×6300

Fig. 8. Clusters of viral inclusions in the basal pole cytoplasm of the epitheliocyte and in the «lacunae» of the basal membrane of the tubule. Uranyl acetate and lead citrate contrast; Zeiss, Libra 120. ×6300

лагать возможность репликации полиомавируса в клетках висцерального эпителия. Однако в процессе исследования серийных срезов присутствия вирусных включений в ядрах или цитоплазме подоцитов капиллярных петель клубочка обнаружено не было.

Отмечались признаки умеренного склерозирования париетального листка капсулы почечного тельца, набухание эпителиоцитов, дистрофические и некробиотические изменения, слущивание клеток (рис. 6). Ряд авторов указывают на возможное (хотя и редкое) поражение париетальных эпителиоцитов при развитии полиомавирусной нефропатии [11]. Вероятно, следует предположить, что обнаруженные в мочевом пространстве фрагменты клеток, содержащие вирусные включения, принадлежали разрушенным клеткам париетального листка капсулы почечного тельца.

Базальные мембраны канальцев нефронов были значительно утолщены с участками расщепления. Наблюдались дистрофические изменения, некроз и слущивание эпителия, лимфоциты в просвете канальцев и перифокально в интерстиции. В отдельных эпителиальных клетках отмечались значительно увеличенные в размерах ядра, содержащие вирусные включения. В просвете отдельных канальцев, внутри фрагментов слущенных клеток, субэпителиально в структуре базальной мембраны определялись скопления вирусных включений (рис. 7, 8).

Необходимо обратить внимание, что в большинстве литературных источников описывается обнаружение вирусных включений при полиомавирусном поражении трансплантата главным образом в ядрах канальцевого эпителия; наличие вирусных частиц в цитоплазме эпителиальных клеток и экстрацеллюлярно встречается крайне редко [4, 12]. Однако значительное количество обнаруженных нами вирусных включений располагались субэпителиально в структуре базальной мембраны в своеобразных «лакунах», что, по всей видимости, свидетельствует о тенденции к миграции вируса по направлению к интерстицию. При этом крупные кластеры вирусных включений были видны уже на этапе светооптического исследования гистологического материала (полутонкие срезы).

Наблюдавшаяся морфологическая картина с учетом выраженности репликации вируса и степени склероза интерстиция [8] указывала на полиомавирусную нефропатию 2-го класса с распространением вирусных частиц [12], что, вероятно, может объяснить отсутствие типичных для полиомавирусной нефропатии изменений ядер пораженных эпителиоцитов при светооптическом исследовании.

По совокупности клинико-анамнестических данных, морфологического исследования, включавшего реакцию иммунофлюоресценции, иммуногистохимическое и электронно-микроскопическое исследование, было установлено острое отторжение трансплантата (интерстициальный тип острого отторжения 1B), сочетанное с полиомавирусной нефропатией, нефросклероз легкой степени.

Таким образом, представлен случай редкого сочетанного поражения нефротрансплантата с нетипичным расположением вирусных включений в тканевых элементах почки, отсутствием характерных, различимых на светооптическом уровне морфологических изменений ядер, пораженных вирусом, эпителиальных клеток канальцевого эпителия и повреждением почечного тельца. В связи с дискретным характером поражения клеточных структур полиомавирусом нельзя исключать вероятность репликации вируса в эпителиоцитах почечного тельца, как париетального, так и, возможно, висцерального листка. Данный клинический случай демонстрирует высокую диагностическую значимость электронно-микроскопического исследования биоптата почечного трансплантата с необходимостью внимательного и последовательного исследования всех гистотопографических зон при подозрении на вирусное поражение органа.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ramos E, Drachenberg CB, Wali R, Hirsch HH. The decade of polyomavirus BK-associated nephropathy: state of affairs. *Transplantation*. 2009; 87: 621–630.
2. Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med*. 2010; 363: 1451–1462.
3. Purighalla R, Shapiro R, McCauley J, Randhawa P. BK-virus infection in a kidney allograft diagnosed by needle biopsy. *Am J Kidney Dis*. 1995; 26: 671–673.
4. Суханов АВ. Полиомавирусная нефропатия. *Нефрология и диализ*. 2001; 4: 411–413. Sukhanov AV. Polyomavirus nephropathy in transplanted kidney. *Nephrology and dialysis*. 2001; 4: 411–413.
5. Vlaminck H, Maes B, Evers G, Verbeke G, Lerut E, Van Damme B et al. Prospective study on late consequences of subclinical non-compliance with immunosuppressive therapy in renal transplant patients. *Am J Transplant*. 2004; 4: 1509–1513.
6. Lerut E, Kuypers DR, Verbeken E, Cleutjens J, Vlaminck H, Vanrenterghem Y et al. Acute rejection in non-compliant renal allograft recipients: a distinct morphology. *Clin Transplant*. 2007; 21: 344–351.
7. Meehan SM, Kadambi PV, Manaligod JR, Williams JW, Josephson MA, Javadi B. Polyoma virus infection of renal allografts: relationships of the distribution of viral infection, tubulointerstitial inflammation, and fibrosis suggesting viral interstitial nephritis in untreated disease. *Hum Pathol*. 2005; 36: 1256–1264.
8. Соловьева СЕ, Пальцева ЕМ, Морозова ММ. Морфологическая диагностика вирусного поражения почечного трансплантата. *Архив патологии*. 2016; 3: 57–63. Solovyeva SE, Paltseva EM, Morozova MM. Morphological diagnosis of viral damage to a kidney transplant. *Arkhiv patologii*. 2016; 3: 57–63.
9. Drachenberg CB, Beskow CO, Cangro CB, Bourquin PM, Simsir A, Fink J et al. Human polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological findings and correlation with urine cytology. *Hum Pathol*. 1999; 30 (8): 970–977.
10. Herrera GA, Veeramachaneni R, Turbat-Herrera EA. Electron microscopy in the diagnosis of BK-polyoma virus infection in the transplanted kidney. *Ultrastructural pathology*. 2005; 6: 469–474.
11. Celik B, Randhawa PS. Glomerular changes in BK virus nephropathy. *Hum Pathol*. 2004; 35: 367–370.
12. Jennette JC, Olson JL, Silva FG, D'Agati VD, eds. *Heptinstall's pathology of the kidney*. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2014.

*Статья поступила в редакцию 4.06.2018 г.
The article was submitted to the journal on 4.06.2018*