

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ НА ФОНЕ КОЛОНИЗАЦИИ *HELICOBACTER PYLORI*

Поздеев О.К.^{1,3}, Валеева Ю.В.¹, Хромова А.М.², Поздеева А.О.⁴

¹кафедра микробиологии ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, val_iulia@mail.ru

²судебно-гистологическое отделение ГАУЗ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы» МЗ РТ

³кафедра микробиологии ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» МЗ РФ

⁴кафедра терапии и семейной медицины ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» МЗ РФ

Проведено изучение характера морфологических изменений слизистой оболочки желчного пузыря на фоне колонизации *Helicobacter pylori*. Установлены основные генотипы штаммов *Helicobacter pylori*, колонизирующих желчевыводящие пути. Выявлены многочисленные и разнообразные признаки воспалительного процесса стенки желчного пузыря у больных с хроническими холециститами. В частности, выявлены признаки гиперплазии слизистой оболочки желчного пузыря (аденоматоз, аденомиоматоз, полипоз, наличие глубоких ходов в стенке желчного пузыря), а также атрофические процессы (уплощение рельефа, истончение слизистой оболочки и мышечного слоя со значительным урежением и деформацией ворсинок стенки желчного пузыря). Полученные данные указывают на достаточно высокую частоту колонизации *Helicobacter pylori* желчевыводящих путей у больных с хроническими холециститами. Вполне возможно, что в развитии подобных морфологических изменений определенная роль принадлежит и *Helicobacter pylori*, что представляет интерес для разработки подходов к лечению подобных патологий.

Ключевые слова: морфология, желчный пузырь, микрофлора

MORPHOLOGICAL CHANGES OF GALL BLADDER DUE TO COLONIZATION BY *HELICOBACTER PYLORI*

Pozdeev^{1,3} O.K., Valeeva J.V.¹, Khromova A.M.², Pozdeeva A.O.⁴

¹Kazan state medical university, Microbiology department, val_iulia@mail.ru

²Office of forensic – medical examination of republic, Forensic-histological department.

³Kazan state medical academy, Microbiology department.

⁴Kazan state medical academy, Therapy and family medicine department.

The character of morphological changes of a mucous membrane of a gall bladder after colonization by *Helicobacter pylori* has been studied. Main genotypes of *Helicobacter pylori*, colonizing bile duct, were established. Numerous and various signs of inflammatory process of a wall of a gall bladder among patients with chronic cholecystitis have been revealed. In particular, signs of hyperplasia of the mucous membrane (adenomatosis, adenomiomatosis, polyposis, presense of deep channels in the gall bladder wall) as well as hypotrophic and atrophic processes (flattening of folds, thinning the mucous membrane and muscular layer with reduction of number and deformation of microvilli of the gall bladder) were observed. The data shows high incidence of bile duct colonization by *Helicobacter pylori* in patients with chronic cholecystitis. It is possible to suppose, *Helicobacter pylori* plays the definite role in the development of similar morphological changes, that is important in developing of approaches to treatment of similar pathology.

Keywords: morphology, gall bladder, microbial flora

К настоящему времени имеют место многочисленные исследования предполагающие участие *Helicobacter pylori* в развитии различных заболеваний человека. К заболеваниям, с доказанной этиологической значимостью *H.pylori*, относят антральный неатрофический хронический гастрит (типа В), язвенную болезнь, дистальный рак желудка и MALT-лимфомы [1]. Но также имеются работы, связывающие *H.pylori* с аутоиммунной тромбоцитопенией, эссенциальной железodefицитной анемией, синдромом Рейно,

аутоиммунным тиреоидитом, токсикозами беременных, атопическими дерматитами и др. [2, 3].

В последние годы особое внимание привлекает возможная связь бактерий рода *Helicobacter* с развитием поражений печени и желчевыводящих путей у человека. К настоящему времени можно считать доказанной роль энтерогепатических хеликобактеров *H.bilis*, *H.hepaticus*, *H.canis*, *H.cholecystis*, *H.pullorum*, *H.rodentium* и *H.rappini* в этиопатогенезе воспалительных заболеваний печени и желчевыводящих путей, карцином печени различного типа у разнообразных млекопитающих. В тоже время установлены факты обнаружения этих бактерий либо их нуклеиновых кислот при различных гепатобилиарных патологиях у человека [4, 5]. Кроме того, выявлено присутствие *H.pylori* в желчевыводящих путях при различных хронических воспалительных заболеваниях [6, 7].

Известно, что хронические воспалительные заболевания желчевыводящих путей являются наиболее распространенными формами гепатобилиарной патологии человека [8]. Большинство авторов склоняется к полиэтиологичной природе заболевания, при этом, одним из важных факторов является чаще восходящая энтерогенная, реже нисходящая гемато- и лимфогенная колонизация желчевыводящих путей микроорганизмами [9]. В то же время ряд исследователей отдает предпочтение роли бактериальной колонизации в патогенезе желчекаменной болезни [10].

Известно, что хроническая желчекаменная болезнь сопровождается существенными морфологическими изменениями эпителия желчного пузыря. Как правило, они бывают связаны с патологическими состояниями и процессами, предшествующими образованию и росту камней, либо с миграцией камней по полости пузыря и закупоркой желчных протоков.

Цель – изучить морфологические изменения желчевыводящих путей при хронических холециститах, в том числе на фоне инфицирования *H.pylori*.

Материал и методы исследования.

Материалом для исследования служили 32 биоптата слизистой оболочки желчного пузыря, отобранных у больных с желчекаменной болезнью при оперативном вмешательстве (холецистэктомии).

Все биоптаты слизистой оболочки были подвергнуты бактериологическому и молекулярно – генетическому исследованию на наличие *H.pylori*.

Для выделения *H. pylori* биоптаты помещали в транспортную тиогликолевую среду и в течение 2–3 часов доставляли в лабораторию. Посевы производили на эритроцит–кровяной и кровяной агары, дополненные амфотерицином В, культивировали в течение 5 суток в микроаэрофильных и капнофильных условиях при 37 °С. Идентификацию *H.pylori* проводили по морфологическим признакам при микроскопии мазков–отпечатков и мазков

желчи, окрашенных по Граму и фуксином; наличие характерной «винтообразной» подвижности, выявляемой фазово-контрастной микроскопией и уреазной активности в СЛО – тесте.

Обнаружение ДНК *H.pylori* проводили методом, предложенным научно-производственной фирмой «Литех» [Момыналиев К.Т. и др., 2003]. Определяемыми фрагментами ДНК *H.pylori* являлись участки гена *ureC*. Результаты документировали с помощью видеосистемы для регистрации «DNA Analyzer» («Литех», Москва). Образцы, положительные по гену *ureC*, в дальнейшем использовали для генотипирования по генам вирулентности *H.pylori*. Генотипирование выделенных штаммов *H.pylori* на наличие генов *cagA*, *vacA* (субтипы *s1*, *s2*, *m1* и *m2*), *babA* проводили с использованием наборов реагентов НПФ «Литех» (Москва).

При диагностировании морфологических изменений слизистой оболочки желчного пузыря биоптаты фиксировали 10% раствором нейтрального формалина с последующей проводкой через спиртовую батарею в автоматизированном процессоре TP 1020 (Leica, Германия) и заливкой в парафин. Гистологические срезы готовили на санном микротоме и окрашивали гематоксилином и эозином. Для описания и количественного микроскопического исследования применяли систему анализа изображений (микроскоп Nikon Eclipse E200, цифровой фотоаппарат Olympus SP 350, компьютер с операционной системой Windows XP, графический редактор Adobe Fotoshop 7.0 и программное обеспечение Tausom).

Результаты.

При бактериологическом исследовании 32 биоптатов слизистой оболочки желчного пузыря *H.pylori* обнаружен в 8 образцах ($25,0 \pm 7,7\%$).

Для оптимизации оценки частоты колонизации *H.pylori* желчевыводящих путей методом ПЦР были протестированы 24 образца биоптатов оболочки желчного пузыря больных желчекаменной болезнью. ДНК бактерий была обнаружена в 16 ($66,6 \pm 9,6\%$) биоптатах слизистой оболочки желчного пузыря. Штаммы *H.pylori*, выделенные из слизистой оболочки желчного пузыря, представлены генотипом *vacAs1/m2+* 11 ($45,8 \pm 10,2\%$), *vacA m2 + 11* ($45,8 \pm 10,2\%$), *vacA s1+* 16 ($66,6\% \pm 9,6\%$), *babA-*, *cagA-*.

В проведенных нами гистологических исследованиях был установлен достаточно широкий спектр патоморфологических изменений слизистой желчного пузыря. Было выявлено наличие явлений атрофии, сглаживание складок слизистой и склероз подлежащих слоев. Также отмечены признаки травматизации слизистой оболочки конкрементами по типу асептического воспаления. В просвете пузыря присутствовали слизь, слущенный эпителий и лейкоциты. Отмечено истончение стенок, утрата на внутренней поверхности желчного

пузыря нормальной нежной складчатости, которая испещрена кровоизлияниями, язвами и рубцами. Гистологически в стенке пузыря были обнаружены лимфоцитарные и плазмноклеточные инфильтраты, разрастание соединительной ткани. Нервные волокна находятся в состоянии зернистого распада, а ганглиозные клетки в состоянии некробиоза.

В биоптатах слизистой оболочки желчного пузыря пациентов, перенесших холецистэктомию, у которых не был установлен факт микробной колонизации, выявлены явления атрофии, сглаживание складок слизистой и склероз подлежащих слоев (рисунок 1).

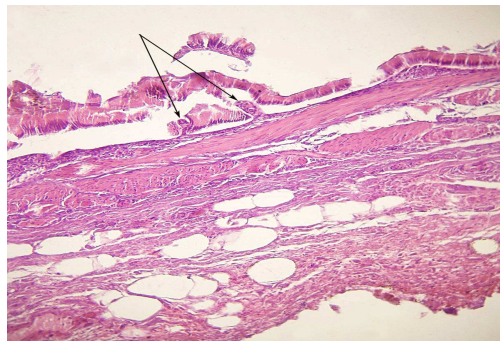


Рис.1. Стенки желчного пузыря при желчекаменной болезни. Окраска гематоксилин – эозином. Об.ок.х100. Гипотрофия слизистой оболочки стенки желчного пузыря с урежением ворсин, ворсинки деформированы (низкие, каплевидные)

Гистологические исследования слизистой желчного пузыря больных при желчекаменной болезни, у которых был установлен факт инфицирования его микроорганизмами, отличными, от *H.pylori*, выявлены многочисленные и разнообразные признаки воспалительного процесса стенки желчного пузыря.

В частности, имели место признаки гиперплазии (аденоматоз, аденомиоматоз, полипоз, наличие глубоких погружных ходов в стенке желчного пузыря), гипо- и атрофические процессы: уплощение рельефа, истончение слизистой оболочки и мышечного слоя со значительным урежением и деформацией ворсин стенки желчного пузыря (рисунок 2).

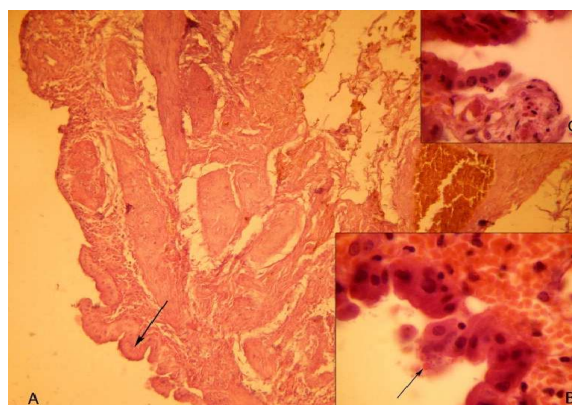


Рис.2. Стенка желчного пузыря при желчекаменной болезни. Окраска гематоксилин-эозином. Гипотрофия слизистой оболочки стенки желчного пузыря с урежением ворсин, ворсинки деформированы (низкие, «грибовидные»), об. ок.х100 (А), дистрофия покровного эпителия, апикальная десквамация, пристеночное и внутрстеночное наличие микрофлоры, об. ок.х1000 (В). Очаги тотальной десквамации эпителия с наличием образований, напоминающих «карманы», внутри которых видно присутствие микроорганизмов, об. ок.х1000 (С)

Были выявлены признаки слизисто – серозного воспаления (очаговое утолщение слизистой оболочки, гиперемия, гиперсекреция слизи, минимальное усиление клеточной инфильтрации поверхностных слоев слизистой оболочки, дистрофия эпителия с набуханием и гипохромностью ядерных структур). Также отмечена межэпителиальная инвазия микроорганизмов. Обращал на себя внимание тот факт, что среди дескваматов измененных эпителиоцитов была значительная примесь желчи с образованием холестазов и формирующиеся конгломераты холестеринавых камней. В цитоплазме части эпителиальных клеток обнаружены зерна бурого пигмента и мелкоочаговый холестероз – очаговое отложение масс, напоминающих холестерин в подслизистой оболочке.

Гистологические исследования слизистой желчного пузыря больных желчекаменной болезни, у которых был установлен факт инфицирования его микроорганизмами в ассоциации с *H.pylori*, выявлены многочисленные и разнообразные признаки воспалительного процесса стенки желчного пузыря. В частности, имели место признаки гиперплазии (аденоматоз, аденомиоматоз, полипоз, наличие глубоких погружных ходов в стенке желчного пузыря), гипо- и атрофические процессы: уплощение рельефа, истончение слизистой оболочки и мышечного слоя со значительным урежением и деформацией ворсин стенки желчного пузыря.

Проведенные патоморфологические исследования показали, что хроническая колонизация микроорганизмами желчевыводящих путей приводит к развитию более выраженных изменений стенки желчного пузыря. Вполне возможно, что в развитии подобных морфологических изменений определенная роль принадлежит и *H.pylori*, т.к. его обнаружение в исследуемых гистологических препаратах, дает основание предположить его участие в поддержании воспаления в слизистой оболочки желчного пузыря.

На возможную этиологическую значимость *H.pylori* может указывать и факт выделения бактерий из желчевыводящих путей больных с хроническими воспалительными заболеваниями гепатобилиарной системы в виде монокультуры, при отсутствии прочих микроорганизмов. Однако наши предположения требуют дальнейшего изучения.

Вывод: Микробную колонизацию слизистой желчного пузыря при холециститах сопровождают более выраженные морфологические изменения, по сравнению с характером деструкции эпителия у пациентов с неинфицированными желчевыводящими путями.

Список литературы

1. Walker M.M., Talley N.J. Review article: bacteria and pathogenesis of disease in the upper gastrointestinal tract — beyond the era of *Helicobacter pylori*. // *Aliment Pharmacol Ther.* — 2014. — Vol.39. — P. 767-779.
2. Franceschi F, Tortora A, Gasbarrini G, Gasbarrini A. *Helicobacter pylori* and Extragastric Diseases. *Helicobacter.* 2014 Sep;19 Suppl 1:52-8.
3. Wong F, Rayner-Hartley E, Byrne MF. Extraintestinal manifestations of *Helicobacter pylori*: A concise review. *World J Gastroenterol.* 2014;20(34):11950-11961.
4. Fox J.G., et al. Hepatic *Helicobacter* species identified in bile and gallbladder tissue from Chileans with chronic cholecystitis. // *Gastroenterology.* – 1998. –Vol.114. – N.4. – P.755 –763.
5. Pellicano R., Ménard A., Rizzetto M., Mégraud F. *Helicobacter* species and liver diseases: association or causation? *Lancet Infect Dis.* 2008; 8:254–60.
6. *H. pylori* are associated with chronic cholecystitis / D. F. Chen [et al.] // *World. J. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 13, N 7. – P. 1119–1122.
7. *Helicobacter pylori* in areas of gastric metaplasia in the gallbladder and isolation of *H. pylori* DNA from gallstones / V. Misra [et al.] // *Pathology.* – 2007. – Vol. 39, N 4. – P. 419–424.
8. Jones M. K. Chronic acalculous cholecystitis: changes in patient demographics and evaluation since the advent of laparoscopy / M. K. Jones, J. C. Gruenberg // *JSLS.* – 1999. – Vol. 3, N 3. – P. 221–224.
9. Suto K. Biliary infection / K. Suto, W. Kimura // *Nippon Rinsho.* – 2002. – Vol. 60, suppl. 1. – P. 284–288.
10. Vitetta L. Single and multiple cholesterol gallstones and the influence of bacteria / L. Vitetta, S. P. Best, A. Sali // *Med. Hypothesis.* – 2000. – Vol. 55, N 6. – P. 502–506.

Рецензенты:

Мусина Л.Т. д.м.н., профессор, ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Казань;
Ильинская О.Н., д.б.н., профессор, ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) Федеральный Университет Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Казань.