

ВОЗМОЖНОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ВЕРИФИКАЦИИ ВИЧ-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ В БИОПСИЙНОМ МАТЕРИАЛЕ

Ю.Р. Зюзя

ГБУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом
Департамента здравоохранения города Москвы»

ABILITY OF MORPHOLOGICAL VERIFICATION OF HIV-ASSOCIATED INFECTIOUS LESIONS IN BIOPSY MATERIAL

Yu.R. Zyuzya

Комплексно-морфологически исследован биопсийный материал с признаками инфекционного поражения или с деструктивными изменениями, полученный от 130 больных; I группа – 72 больных ВИЧ-инфекцией 4 Б-В стадии, II группа (контрольная) – 58 больных без ВИЧ-инфекции. В I группе выявлен более широкий спектр инфекций, подавляющее большинство из которых являются ВИЧ-ассоциированными оппортунистическими заболеваниями (туберкулез, НТМБ МАС, ЦМВИ, микозы, сочетанные поражения) – 80,9%, со значительным преобладанием туберкулеза (50%). В 11,1% установлено сочетанное инфекционное поражение, вызванное различными видами возбудителей, с преобладанием сочетания туберкулез и ЦМВИ. Биопсийный эндоскопический материал от больных ВИЧ-инфекцией, несмотря на его малые размеры и малое количество, может быть очень информативен при комплексном морфологическом исследовании. Следует учитывать возможность нетипичной морфологической картины инфекционного заболевания, протекающего в условиях глубокой иммуносупрессии, нехарактерную локализацию изменений. Для выявления инфекционного агента в биоптате необходимо проведение гистобактериоскопического, иммуногистохимического, молекулярно-биологического методов исследования.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, ВИЧ-ассоциированные заболевания, туберкулез, патологическая анатомия, биопсийный материал

Введение

По данным международной статистики, в 2020 году число новых случаев инфицирования вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) сократилось на 47% по сравнению с 1998 годом, когда этот показатель достиг пикового значения. Однако, несмотря на эти показатели, общемировое число людей, живущих с ВИЧ, составляло в 2020 году 37,6 млн человек, причем число новых случаев инфицирования ВИЧ насчитывало 1,5 млн, а количество умерших от ВИЧ-инфекции – 690 000 чел. С начала эпидемии ВИЧ-инфекции в мире 34,7 млн человек умерли от заболеваний, связанных с ВИЧ. В Российской Федерации по состоянию на 31.12.2020 среди граждан Россий-

The biopsy material with signs of an infectious lesion or with destructive changes obtained from 130 patients was comprehensively morphologically examined; Group I – 72 patients with HIV infection of stage 4 B-C, group II (control) – 58 patients without HIV infection. A wider range of infections was detected in group I, the vast majority of which are HIV-associated opportunistic diseases (tuberculosis, NTMB MAS, CMVI, mycoses, combined lesions) – 80.9%, with a significant predominance of tuberculosis (50%). In 11.1%, a combined infectious lesion caused by various types of pathogens was found, with a predominance of a combination of tuberculosis and CMVI. Biopsy endoscopic material from patients with HIV infection, despite its small size and small amount, can be very informative in a complex morphological study. It is necessary to take into account the possibility of an atypical morphological picture of an infectious disease occurring in conditions of deep immunosuppression, uncharacteristic localization of changes. To detect an infectious agent in a biopsy, it is necessary to conduct histobacterioscopic, immunohistochemical, molecular biological methods of research.

Key words: HIV infection, HIV-associated diseases, tuberculosis, pathological anatomy, biopsy material

ской Федерации было зарегистрировано 1 492 998 человек с ВИЧ-инфекцией, из них 388 230 умерших. В течение 2020 года в России было сообщено о 72 023 новых случаях выявления ВИЧ-инфекции, умерло 32 208 инфицированных ВИЧ, причем ведущей причиной летальных исходов среди инфицированных ВИЧ остается туберкулез (как в Российской Федерации, так и за рубежом).

В настоящее время ВИЧ-инфекция является одной из основных глобальных проблем общественного здравоохранения, но по современным представлениям, благодаря эффективным средствам профилактики, диагностики, лечения ВИЧ-инфекции и оппортунистических процессов, заболевание

перешло в категорию поддающихся терапии хронических заболеваний. Это значительно увеличило продолжительность и качество жизни больных ВИЧ-инфекцией [1, 10, 11, 15].

Помимо улучшения доступности к антиретровирусной терапии и увеличения её эффективности, повышения приверженности больного к лечению, большое значение играет своевременная и правильная диагностика ВИЧ-ассоциированных заболеваний, что дает возможность коррекции этих патологических состояний.

В отечественной и зарубежной научной литературе опубликованы работы, посвященные морфологической диагностике оппортунистических заболеваний при ВИЧ-инфекции, выполненные в большинстве случаев на аутопсийном материале [2, 3, 8, 9, 14, 16]. Реже встречаются сведения по прижизненной диагностике операционного материала, когда имеются довольно большой объем объектов для исследования, достаточное количество времени для изучения, а также возможность взять дополнительные фрагменты тканей и органов из формалинового архива. Прижизненному морфологическому исследованию эндоскопического материала посвящены отдельные статьи, большей частью посвященные микобактериальным поражениям как наиболее часто встречающейся оппортунистической патологии при ВИЧ-инфекции [4, 5, 6, 7, 12, 13]. Однако в диагностическом плане, особенно у такого сложного и тяжелого контингента больных, как пациенты с поздними стадиями ВИЧ-инфекции и различными вторичными заболеваниями, очень важное значение для их своевременной верификации играет изучение биопсийного (преимущественно эндоскопического) материала.

Цель исследования

Изучить возможности морфологической верификации ВИЧ-ассоциированных инфекционных поражений в биопсийном материале.

Материалы и методы исследования

Морфологически комплексно исследован и проанализирован биопсийный материал с признаками инфекционного поражения или с деструктивными изменениями, полученный от 130 больных. Для морфологического изучения материал был взят при эндоскопических исследованиях, при выполнении пункций органов и лапароскопических биопсиях органов брюшной полости. Материал был получен при ларинго- и бронхоскопии (прямая биопсия гортани, прямая биопсия бронха, чрезбронхиальная биопсия легкого), при эзофагогастродуоденоскопии (биопсия слизистой оболочки пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки), при колоноскопии (биопсия толстой, подвздошной кишки), слизистой оболочки мочевого пузыря и чашечно-лоханочной системы при цистоскопии. Также изучены фрагменты тканей, получен-

ные при пункционных биопсиях плевры, легкого, лимфатических узлов, молочной железы; при лапароскопических и пункционных биопсиях печени и брюшины; биопсии миндалин; трепанобиоптаты.

В первую группу исследования были включены 72 больных ВИЧ-инфекцией 4 Б-В стадии, ко второй группе (контрольной) отнесен материал от 58 больных без ВИЧ-инфекции (таблица).

Кусочки тканей фиксировали в 10%-ном растворе забуференного формалина, проводили по стандартной методике, срезы толщиной 3–4 микрона окрашивали гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии.

Для более детальной характеристики различных патологических процессов использовали гистохимические и гистобактериоскопические методы. Для оценки процессов организации, фиброза применяли окраску по Ван Гизону, при которой коллагеновые волокна окрашиваются в красный цвет. Выявление кислотоустойчивых бактерий, к которым относятся и микобактерии, проводили с помощью гистобактериоскопии по Цилю-Нельсену (*Ziehl-Neelsen*). Кислотоустойчивые бактерии окрашиваются в красный цвет, ядра клеток – темно-синие, фон – голубой. Определение возбудителей микозов проводили с помощью ШИК-реакции (PAS), которая выявляет гликопротеиды, находящиеся в капсуле грибовых структур, и окрашивает грибы в малиново-красный цвет.

Для иммуногистохимического исследования гистологические срезы обрабатывали по стандартным методикам, инкубацию с первичными антителами проводили в соответствии с инструкцией производителя, затем использовали системы детекции LSAB+ или EnVision+ (*Dako*), выявление пероксидазной активности осуществляли с помощью хромогена DAB+ (*Dako*), ядра докрашивали гематоксилином. В работе использовали следующие антитела в стандартных разведениях: *Myc. tuberculosis mouse monoclonal antibody, clone 1.1/3/1*; *Monoclonal Mouse Anti-Cytomegalovirus, clone CCH2+DDG9, DAKO*. Результаты иммуногистохимического исследования интерпретировали с использованием полуколичественной визуально-аналоговой шкалы, предложенной D.C. Allred.

Микроскопическое исследование гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа *Olympus B51*, с увеличением 40, 100, 200, 400 и 1000. Микрофотографирование выполнено микрофотокамерами *Olympus DP41* и *Zeiss AxioCam ERc5s*.

Результаты исследования

В контрольной группе (группа 2 – 58 человек) при гистологическом исследовании биопсийного материала различных органов и тканей выявлены микроскопические изменения, характерные для микобактериального поражения: туберкулез – 33 чел., 56,9%, нетуберкулезный микобактериоз (НТМБ) *M. kansasii* – 4 чел., 6,9%, что для специализированного



Рис. 1. Количественное распределение биопсийного материала по патологии (в %)

учреждения фтизиатрического профиля вполне обоснованно. Кроме того, у 3 больных (5,1%) диагностировано поражение микотической этиологии. Также были установлены изменения воспалительного «неспецифического» характера, в т.ч. эрозивно-язвенные поражения, вызванные различной микробной флорой, что было подтверждено гистобактериоскопически, или неуточненной этиологии (18 чел., 31,1%) – плеврит, бронхит, эрозии и язвы слизистой оболочки пищевода, желудка, толстой кишки (таблица, рис. 1).

В случаях туберкулезного поражения различных органов в биоптатах выявляли типичного вида гранулемы: сливающиеся, эпителиоидно-гигантоклеточные, с лимфоидным валом по периферии, в случае прогрессирования процесса – в центре гранулем отмечалась лейкоцитарная инфильтрация и формирование участка казеозного некроза (рис. 2). При активном туберкулезном воспалении перифокально определяли изменения реактивного характера в виде отека, клеточной инфильтрации – мононуклеарной или с примесью лейкоцитов. Кроме того, в зависимости от локализации туберкулезного

поражения, реактивные изменения в прилежащих участках проявлялись, например, пролиферацией и дистрофическими изменениями альвеолярного эпителия, плоскоклеточной метаплазией респираторного бронхиального эпителия, дистрофией и десквамацией эпителия кишечных крипт, пролиферацией мезотелия плевры или брюшины и т.п.

Достаточно типичная картина гранулематозного воспаления позволяла заподозрить микобактериальную патологию при обзорной микроскопии и проводить дальнейшее морфологическое исследование для подтверждения этиологии процесса с проведением гистобактериоскопии по Цилю-Нельсену, иммуногистохимического исследования с туберкулезными антителами, ПЦР-исследование материала из парафинового блока с обнаружением ДНК *M. tuberculosis* (МБТ).

При выявлении изменений, характерных для воспаления «неспецифического» характера, эрозивно-язвенных поражений в большинстве случаев определялись скопления кокково-бациллярной микрофлоры. В некоторых случаях неокислостойчивая флора определялась при окраске по Цилю-Нельсену с окрашиванием микроорганизмов в темно-синий цвет, в то время как кислотоустойчивые бактерии приобретают при этой окраске красное окрашивание.

В первой исследуемой группе (72 человека с ВИЧ-инфекцией) также превалировало микобактериальное поражение – туберкулез и микобактериоз, вызванный нетуберкулезными микобактериями *M. avium complex* (МАС) (соответственно – 36 человек, 50% и 10 человек, 13,9%). В сравнении с группой контроля количество случаев с туберкулезом было примерно одинаковым (50% в 1 группе и 56,9% во 2 группе), в то время как количество случаев с диагностированным нетуберкулезным микобактериозом было почти вдвое выше в группе с ВИЧ-инфекцией, с выявлением

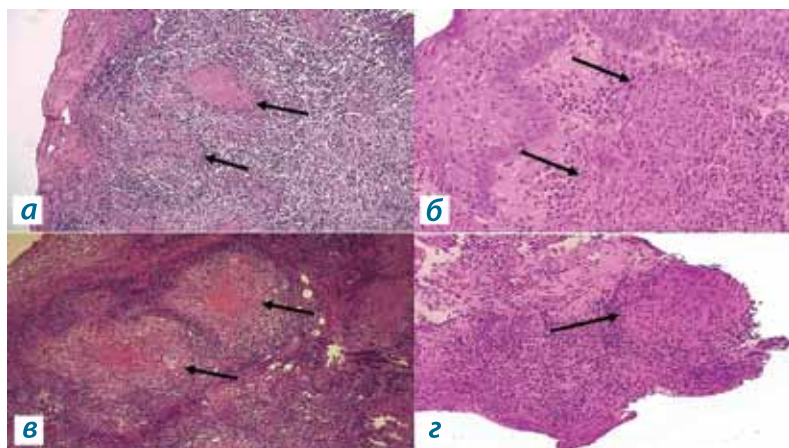


Рис. 2. Группа 2, туберкулез без ВИЧ-инфекции. Типичное туберкулезное воспаление:

а) лимфатический узел; б) плевра; в) миндалина; г) бронх. Окраска гематоксилином и эозином: а, в – $\times 100$; б, г – $\times 200$

Таблица. Количественное распределение биопсийного материала по органам и патологии

Вид биопсийного материала	Количество больных (абс.)	
	1 группа (ВИЧ-инфекция 4 Б-В ст.)	2 группа (без ВИЧ-инфекции)
Гортань	1	1
Туберкулез	1	1
Бронх	10	14
Туберкулез	7	7
Микоз	–	2
Нетуберкулезный микобактериоз МАС	1	–
Выраженный хронический бронхит с обострением	2	5
Легкое	–	2
Туберкулез	–	2
Пищевод	11	5
Туберкулез	3	–
Микоз	3	–
Цитомегаловирусная инфекция	1	–
Эрозивно-язвенный эзофагит	2	5
Сочетанные инфекционные поражения	2	–
Желудок	5	–
Туберкулез	2	–
Цитомегаловирусная инфекция	1	–
Эрозивно-язвенный гастрит	2	–
Двенадцатиперстная кишка	3	–
Туберкулез	2	–
Нетуберкулезный микобактериоз МАС	1	–
Подвздошная кишка	–	2
Туберкулез	–	2
Толстая кишка	21	11
Туберкулез	5	3
Псевдомембранозный колит	2	5
Нетуберкулезный микобактериоз МАС	3	–
Цитомегаловирусная инфекция	2	–
Эрозивно-язвенный колит	3	3
Сочетанные инфекционные поражения	6	–
Плевра	4	3
Туберкулез	4	3
Молочная железа	–	1
Туберкулез	–	1
Лимфатический узел	3	2
Туберкулез	2	1
Нетуберкулезный микобактериоз МАС	1	–
Нетуберкулезный микобактериоз <i>M. kansasii</i>	–	1
Печень	6	5
Туберкулез	4	4
Нетуберкулезный микобактериоз МАС	2	–
Нетуберкулезный микобактериоз <i>M. kansasii</i>	–	1
Брюшина	5	4
Туберкулез	4	4
Нетуберкулезный микобактериоз МАС	1	–
Миндалины	1	2
Туберкулез	1	1
Микоз	–	1
Красный костный мозг	2	2
Туберкулез	1	1
Нетуберкулезный микобактериоз МАС	1	–
Нетуберкулезный микобактериоз <i>M. kansasii</i>	–	1
Почка	–	1
Туберкулез	–	1
Мочевой пузырь	–	3
Туберкулез	–	3
Итого:	72	58

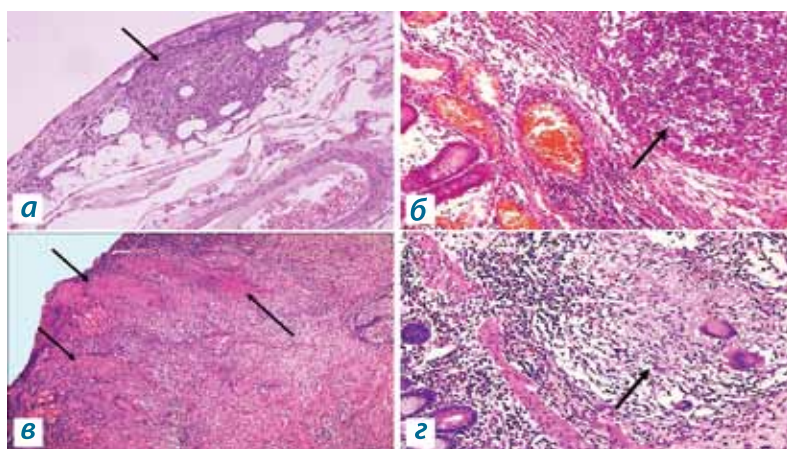


Рис. 3. а) брюшина, ВИЧ-ассоциированный туберкулез, «стертая» мелкая нечеткая гранулема (указана стрелкой); б) для сравнения – брюшина, туберкулез без ВИЧ-инфекции, типичное туберкулезное воспаление, сливающиеся гранулемы с казеозным некрозом в центре (указаны стрелками); в) кишка; ВИЧ-ассоциированный туберкулез, гнойно-некротический очаг без признаков гранулематозного воспаления (указан стрелкой); г) для сравнения – кишка, туберкулез без ВИЧ-инфекции, сливающаяся гранулема с казеозным некрозом в центре (указана стрелкой).

Окраска гематоксилином и эозином. а, б – $\times 100$; в, г – $\times 200$

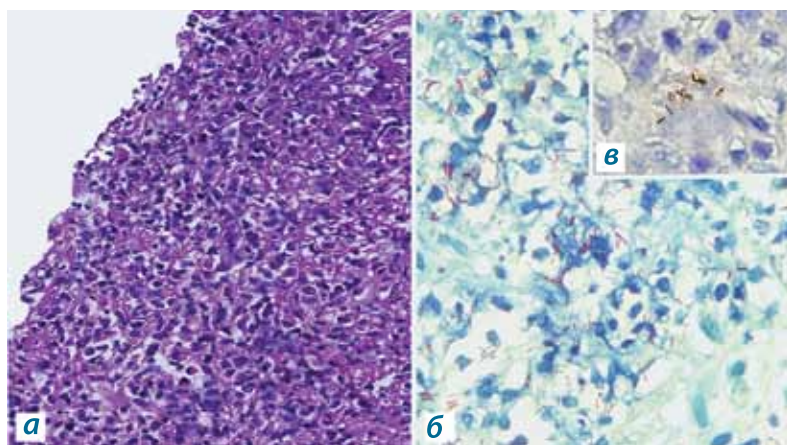
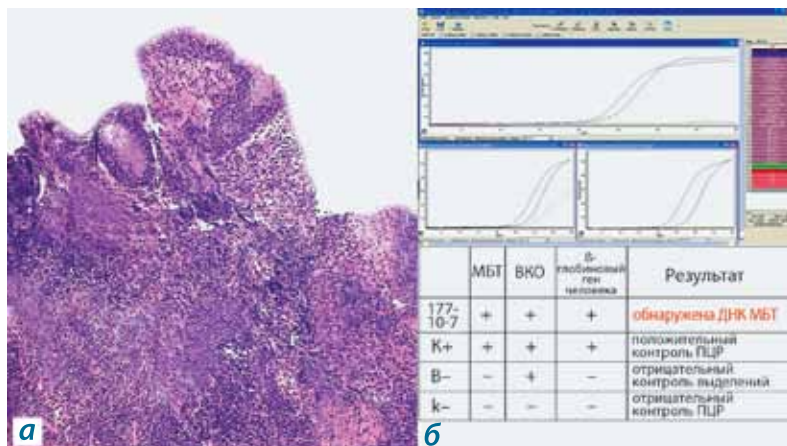


Рис. 4. Группа 1. ВИЧ-ассоциированный туберкулез. Плевра: а) морфологическая картина фибринозно-гнойного плеврита, без признаков гранулематозного воспаления; б) кислотоустойчивые бактерии (окрашены в красный цвет) в плевре; в) микобактерии (окрашены в золотисто-коричневый цвет); а – окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; б – окраска по Цилю-Нельсену, $\times 1000$; в – иммуногистохимическое исследование с туберкулезными антителами, $\times 1000$



НТМБ МАС (4 чел., 6,9% в контрольной группе и 10 чел., 13,9% в группе с ВИЧ). В контрольной группе видовая идентификация нетуберкулезных микобактерий выявила *M. kansasii*). Кроме того, было установлено микотическое поражение у 3 человек, 4,2%), а также изменения воспалительного «неспецифического» характера, в т.ч. эрозивно-язвенные поражения, вызванные различной микробной флорой, что было подтверждено гистобактериоскопически, или неуточненной этиологии (11 чел., 15,2%). В группе с ВИЧ-инфекцией у 4 человек (5,6% случаев) обнаружена цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ), случаи с этой патологией в контрольной группе не установлены. Особый интерес в исследуемой группе представляли биопсии с морфологическими признаками сочетанной инфекционной патологии, которые были диагностированы у 8 больных (11,1%). В контрольной группе, у пациентов без ВИЧ-инфекции, сочетанной инфекционной патологии в биопсийном материале не было выявлено (таблица, рис.1).

При анализе случаев, в которых при комплексном морфологическом исследовании был диагностирован туберкулез, установлено, что в подавляющем большинстве случаев при обзорной микроскопии признаков гранулематозного воспаления не обнаруживалось. Гистологическое исследование показало микроскопическую картину воспаления «неспецифического» характера, без формирования гранул. В подавляющем большинстве случаев интенсивность воспаления была умеренной или выраженной, по характеру воспалительного инфильтрата – острое или подострое воспаление (рис. 3, рис. 4, рис. 5). В единичных случаях были найдены крайне стертые элементы гранулематозного воспаления в виде единичных рассеянных многоядерных клеток и нечетких тяжей из эпителиоидных клеток (не формирующих гранулемы) или мелкие некротические участки (рис. 6).

Рис. 5. Группа 1. ВИЧ-ассоциированный туберкулез. Бронх. Морфологическая картина выраженного воспаления «неспецифического» характера: а) окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$; б) при ПЦР-исследовании материала из парафинового блока выявлена ДНК МБТ (результат ПЦР-исследования представлен М.В. Альварес-Фигероа)

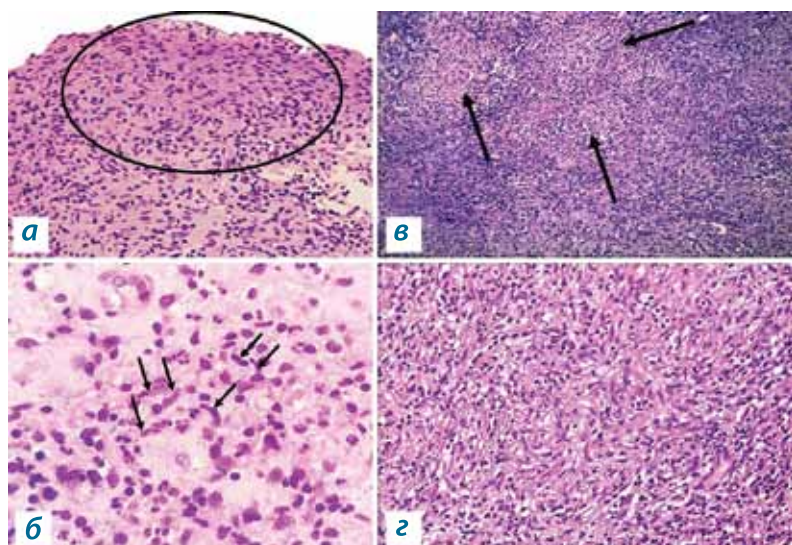


Рис. 6. Группа 1. ВИЧ-ассоциированный туберкулез: а) бронх, нечеткая гранулемоподобная структура в слизистой оболочке обведена овальной рамкой; б) бронх, в слизистой оболочке нечеткое скопление эпителиоидных клеток (указаны стрелками) без формирования гранулемы; в) лимфатический узел, мелкие нечеткие («стертые») гранулемы; г) лимфатический узел, нечеткие тяжи из эпителиоидных клеток без формирования гранулем. Окраска гематоксилином и эозином. а, г – $\times 200$; б – $\times 400$; в – $\times 100$

Учитывая наличие ВИЧ-инфекции с выраженной иммуносупрессией и высоким риском развития туберкулеза, во всех случаях проводилась гистобактериоскопия по Цилю-Нельсону, при которой практически во всех исследованиях обнаруживали кислотоустойчивые бактерии (рис. 4б). Иммуногистохимическое исследование с туберкулезными антителами подтвердило принадлежность кислотоустойчивых бактерий к роду микобактерий (рис. 4в). Помимо этого, кусочки тканей из парафинового блока биоптатов направляли на ПЦР-исследование для выявления ДНК МБТ (рис. 5б), наличие которой было подтверждено во всех случаях. Таким образом, выявление возбудителя при комплексном морфологическом

исследовании подтверждало туберкулезную этиологию процесса, несмотря на отсутствие признаков гранулематозного воспаления при обзорной микроскопии.

В случаях ВИЧ-ассоциированного туберкулезного поражения была установлена нетипичная локализация процесса, например, пищевод, желудок, двенадцатиперстная кишка (рис. 7).

При морфологической диагностике ВИЧ-ассоциированного нетуберкулезного микобактериоза, вызванного МАС (*M. avium complex*) выявление типичных для микобактериального поражения микроскопических признаков бывает затруднительно. Это связано с тем, что при НТМБ МАС типичные для микобактериального процесса гранулематозные и некротические изменения могут не формироваться или бывают крайне стертыми. Для МАС характерна макрофагальная реакция из мноморфных округлых или полигональных клеток со светлой мелковакуолизированной, несколько матовой цитоплазмой. В операционном материале такие изменения обычно занимают большой объем

и выявляются при обзорной микроскопии. Однако в эндоскопическом биопсийном материале скопления диагностически значимых клеток могут быть крайне малы (несколько клеток) и не замечены при микроскопическом исследовании или макрофаги принимаются за клеточный инфильтрат при обычном («неспецифическом») воспалительном процессе за новообразование из клеток гистиоцитарного ряда (рис. 8а, б, в).

Обязательное выполнение гистобактериоскопии по Цилю-Нельсену в любом материале от больных с ВИЧ-инфекцией, даже при отсутствии морфологических признаков микобактериального поражения, дают возможность выявлять и случаи нетуберкулезного микобактериоза МАС. При окраске

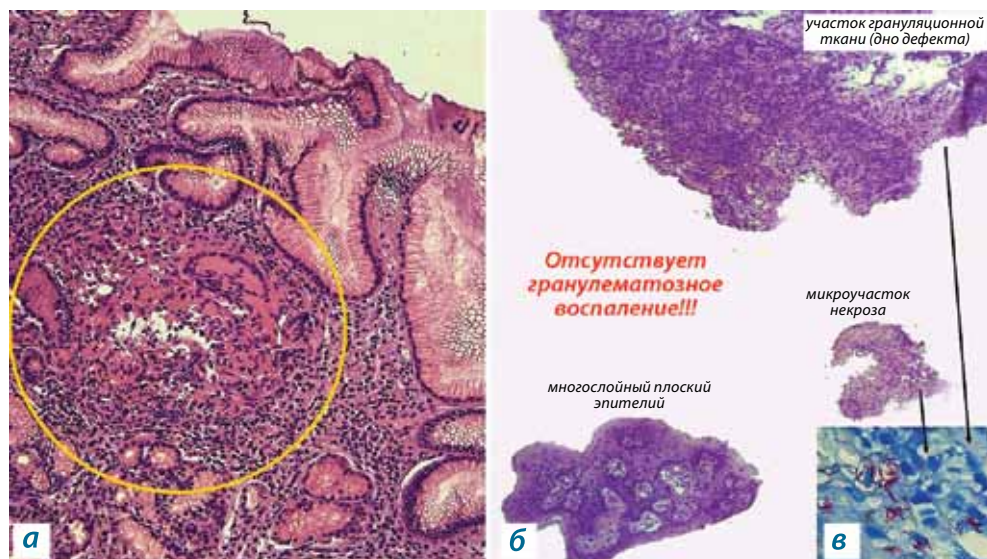


Рис. 7. Группа 1. ВИЧ-ассоциированный туберкулез: а) туберкулез желудка (гранулема обведена круглой рамкой), при ПЦР-исследовании выявлена ДНК МБТ; б) биоптат слизистой оболочки пищевода из участка язвенного дефекта, признаков гранулематозного воспаления нет, при окраске по Цилю-Нельсену в дне язвы и в детрите выявлены кислотоустойчивые бактерии (рис. «в»). а, б – окраска гематоксилином и эозином; в – окраска по Цилю-Нельсену; а – $\times 400$; б – $\times 100$; в – $\times 1000$

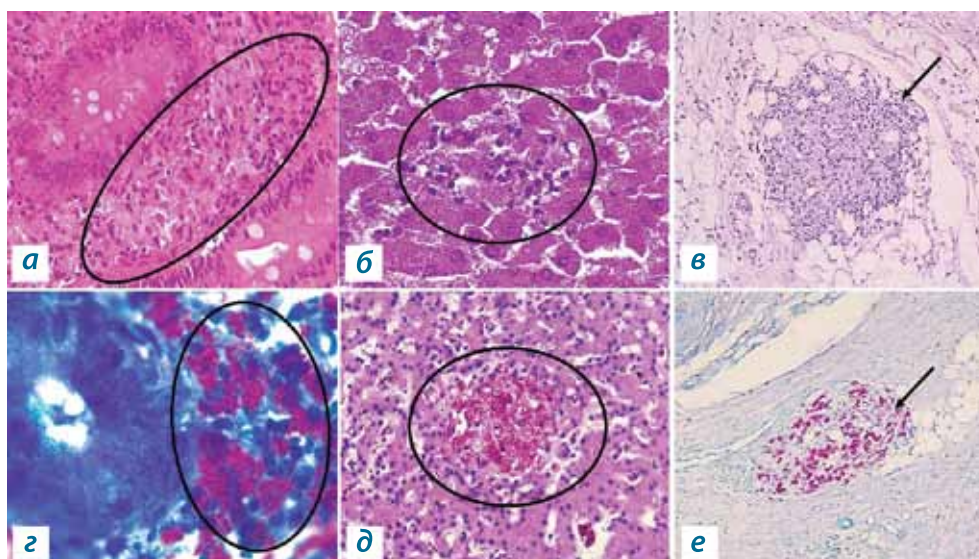


Рис. 8. Группа 1. ВИЧ-ассоциированный нетуберкулезный микобактериоз МАС: а, г – двенадцатиперстная кишка; б, д – печень; в, е – брюшина. а, б, в – окраска гематоксилином и эозином; г, д, е – окраска по Цилю-Нельсену. а, д – $\times 200$, б, г – $\times 1000$; в, е – $\times 100$

по Цилю-Нельсену в цитоплазме макрофагов выявляются кислотоустойчивые бактерии в очень большом количестве, не поддающиеся подсчету (рис. 8 г, д, е). Иммуногистохимическое исследование с туберкулезными антителами доказывает принадлежность выявленного возбудителя к роду микобактерий, но не дает возможность дифференцировать *M. tuberculosis* и нетуберкулезные микобактерии. Однако характерная локализация микобактерий в цитоплазме макрофагов позволяет правильно оценить патологический процесс. Видовую идентификацию возбудителя проводили при помощи ПЦР-исследования материала из парафинового блока или нативного материала, а также бактериологического посева.

Цитомегаловирусная инфекция в эндоскопическом материале в группе больных с ВИЧ-инфекцией установлена у 4 больных

(5,6%), в биоптатах желудка, пищевода, толстой кишки. ЦМВИ также была выявлена и при сочетанных инфекционных поражениях, о чем будет сказано ниже. В случаях с цитомегаловирусной инфекцией при обзорной микроскопии находили клетки с цитомегалической трансформацией, что проявлялось резким увеличением размеров клеток и ядер и формированием перинуклеарного просветления (гало), такие клетки имеют очень характерное название – «клетки совиного глаза» (рис. 9). В двух случаях типичных клеток «совиного глаза» не обнаружили, но отмечены увеличение пораженных клеток эпителия в размерах, увеличение ядер с размытостью их контуров и светлым слабо-базофильным матовым окрашиванием и эозинофильная реакция в участках ЦМВ-воспаления (инфильтрация из эозинофильных лейкоцитов встречается при некоторых вирусных

поражениях, в частности, при ЦВМИ). Выявлено поражение клеток эпителия слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и эндотелия сосудов. При иммуногистохимическом исследовании с цитомегаловирусными антителами констатирована положительная реакция, причем антитела экспрессировали не только клетки с цитомегаловирусной трансформацией, определяемой при обзорной микроскопии, но и клетки обычных размеров, без видимых изменений в ядрах, не визуализированные при обзорном просмотре микропрепаратов. Выявление цитомегаловируса до формирования видимой цитомегалической трансформации делает иммуногистохимическое исследование крайне ценным методом, особенно при довольно малом количестве ткани (то есть при работе с эндоскопическим материалом).

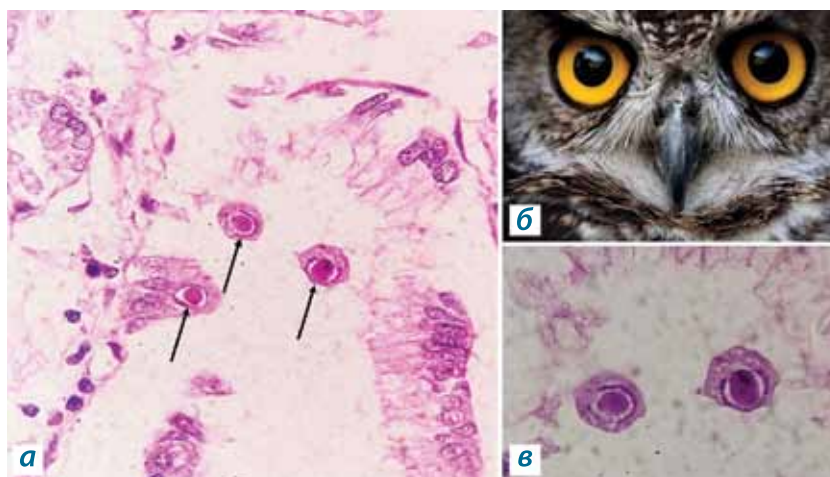


Рис. 9. Группа 1. Цитомегаловирусный колит: а) клетки с цитомегалической трансформацией в эпителии кишечной крипты (т. н. клетки «совиного глаза»), указаны стрелками; б) сова, фото из интернет-ресурса (для сравнения с микроскопической картиной клеток при цитомегаловирусной инфекции). <https://nashzelenymir.ru>, обращение 15.06.2021; в) клетки «совиного глаза», фрагмент рис. «а». а, в – окраска гематоксилином и эозином. а – $\times 400$; в – $\times 1000$

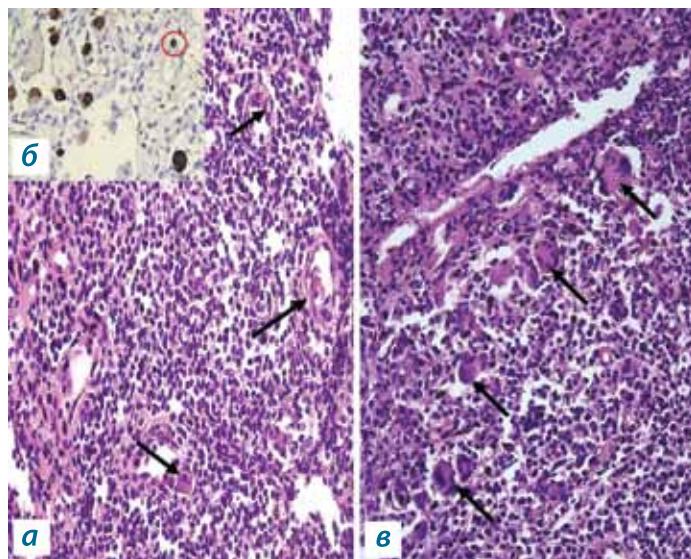


Рис. 10. Группа 1. Сочетанное поражение. Цитомегаловирусная инфекция и туберкулез. Толстая кишка: а, б) клетки с цитомегалической трансформацией (указаны стрелками на рис. а); в) нечеткая гигантоклеточная реакция без формирования гранулемы (гигантские многоядерные клетки указаны стрелками); при последующем ПЦР-исследовании материала из парафинового блока выявлена ДНК МБТ. а, в – окраска гематоксилином и эозином; б – иммуногистохимическое исследование с цитомегаловирусными антителами. $\times 400$

Особый интерес при изучении биопсийного материала представляли случаи сочетанных инфекционных поражений, которые в исследуемой первой группе (ВИЧ) морфологически диагностированы в 11,1% случаев (8 чел.). Сочетанные инфекции выявили в биоптатах толстой кишки у 6 больных, пищевода – у 2 больных. В изученном нами эндоскопическом материале наблюдалось сочетание двух инфекций в самых различных вариантах: туберкулез + цитомегаловирусная инфекция – 4 чел., туберкулез + микоз – 1 чел., микобактериоз МАС + микоз – 1 чел., цитомегаловирусная инфекция + микоз – 1 чел., цитомегаловирусная инфекция + микобактериоз МАС – 1 чел. Обращало на себя внимание разнообразное сочетание инфекционных агентов – бактериально-вирусные поражения, бактериально-микотические и вирусно-микотические. Учитывая нетипичные морфологические проявления ВИЧ-ассоциированных инфекций при глубокой иммуносупрессии, микроскопическая верификация их сочетания часто вызывала трудности и требовала проведения целенаправленного морфологического поиска.

Наиболее часто встреченное в нашем исследовании сочетание – это туберкулез и цитомегаловирусная инфекция. Всего при исследованных различных сочетанных поражениях туберкулез диагностирован в 5 случаях, ЦМВИ – в 6 случаях, и количество больных с этими заболеваниями в целом в 1-й группе соответственно увеличивается с 36 до 41 чел., 56,9% (туберкулез); с 4 до 10 чел., 13,9% (ЦМВИ).

Так, в биоптате слизистой оболочки кишки больной К. были выявлены цитомегаловирусные изменения эпителия,

подтвержденные иммуногистохимическим методом. Помимо этого, в собственной пластинке слизистой оболочки имелось скопление нескольких гигантских многоядерных клеток в собственной пластинке без формирования гранулемы. Гигантоклеточная реакция в слизистой оболочке толстой кишки может быть обусловлена несколькими причинами: микобактериальными инфекциями, микотическим поражением, внедрением инородной частицы твердой пищи (например, рыбная кость, скорлупа ореха и т.п.). При проведении комплексного морфологического гистобактериоскопического исследования структур гриба при PAS-реакции и кислотоустойчивых бактерий при окраске по Цилю-Нельсену не найдено. Учитывая, что наиболее часто встречающимся оппортунистическим заболеванием при поздних стадиях ВИЧ-инфекции является туберкулез, материал из парафинового блока направили на ПЦР-исследование, при котором обнаружили ДНК *M. tuberculosis* (рис. 10). Таким образом, в одном кусочке биопсийного материала морфологически верифицировали ЦМВИ и туберкулез. Впоследствии при клиническом, инструментальном и лабораторном обследовании пациентки установили, что обе эти инфекции имели генерализованный характер.

В другом исследовании эндоскопического материала пищевода больного 3. микроскопическая картина была характерна для подострого эзофагита, с лимфоидно-лейкоцитарной инфильтрацией слизистой оболочки. Поскольку проведение гистобактериоскопии по Цилю-Нельсену в материале от пациентов с ВИЧ-инфекцией является в нашем учреждении обязательным, независимо от наличия или отсутствия признаков микобактериального поражения, это исследование было проведено. В воспалительном инфильтрате установлено наличие кислотоустойчивых бактерий, что свидетельствовало о туберкулезном эзофагите, хотя для туберкулеза данная локализация не очень типична и гранулематозное воспаление отсутствовало. Также при обзорной микроскопии этого биоптата обратила на себя внимание крупная клетка с увеличенным матовым бледно-окрашенным ядром в эпителии кардального отдела пищевода, что могло быть подозрительным на цитомегалическую трансформацию эпителиоцита. Это предположение полностью подтвердилось при иммуногистохимическом исследовании (рис. 11).

В одном из исследований эндоскопического материала слизистой оболочки толстой кишки (больной Н.) были выявлены признаки цитомегаловирусной инфекции в виде характерной цитомегалической трансформации клеток эпителия, с положительной реакцией при иммуногистохимическом исследовании с цитомегаловирусными антителами. В собственной пластинке слизистой оболочки в этом же биоптате обнаружено скопление макрофагов, формирующих мелкую нечеткую

гранулемоподобную структуру. Гистобактериоскопическое исследование по Цилю-Нельсену показало наличие в цитоплазме макрофагов кислотоустойчивых бактерий, количество которых было настолько велико, что нагруженные микробами макрофаги визуализировались при увеличении микроскопа $\times 100$ (гистобактериоскопию обычно проводят при тысячекратном увеличении). Такая морфологическая картина более соответствовала нетуберкулезному микобактериозу, вызванному *M. avium*, что и было подтверждено при ПЦР-исследовании материала из парафинового блока. Таким образом, установлено сочетанное инфекционное поражение толстой кишки двумя ВИЧ-ассоциированными оппортунистическими заболеваниями: микобактериозом МАС и цитомегаловирусной инфекцией (рис. 12).

При исследовании биоптата слизистой оболочки толстой кишки больного Ж. в собственной пластинке выявлен диффузный макрофагальный инфильтрат, что было расценено как проявление хронического колита. При гистобактериоскопии по Цилю-Нельсену в этих макрофагах обнаружили кислотоустойчивые бактерии, количество и расположение которых было характерно для микобактериоза МАС, что было подтверждено результатами молекулярных исследований. Помимо этих изменений имелись поверхностные эрозии слизистой оболочки с микотическим обсеменением и выявлением структур псевдомицелия дрожжевого гриба типа *Candida* с ШИК-положительной реакцией. В данном случае также имело место сочетание двух оппортунистических инфекций: нетуберкулезного микобактериоза кишечника и эрозивного кандидозного колита (рис. 13).

Выводы

1) В контрольной группе биопсий от больных без ВИЧ-инфекции в большинстве случаев выявлен туберкулез (56,9%), что вполне обоснованно для специализированного фтизиатрического патологоанатомического отделения. В различных органах отмечена типичная картина гранулематозного воспаления.

2) Микобактериозы, вызванные нетуберкулезными микобактериями (6,9%), представлены *M. kansasii*. Отмечено поражение легких, внутригрудных лимфатических узлов, печени, красного костного мозга. Общее количество случаев с микобактериальным поражением (туберкулез и НТМБ) составило 63,8%. Микроскопическая картина НТМБ

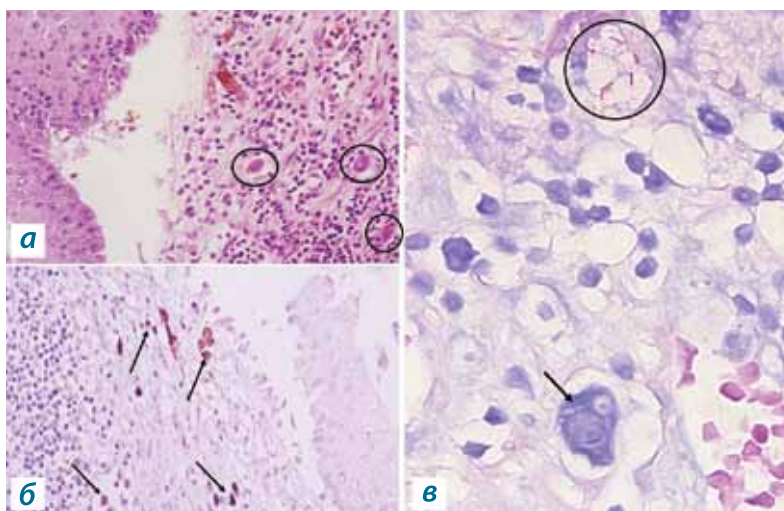


Рис. 11. Группа 1. Сочетанное поражение. Цитомегаловирусная инфекция и туберкулез. Пищевод: а) клетки с цитомегалической трансформацией в слизистой оболочке (обведены круглыми рамками); б) клетки, пораженные цитомегаловирусом, окрашены в коричневый цвет; в) клетка с цитомегалической трансформацией типа «совиного глаза», указана стрелкой; кислотоустойчивые бактерии (обведены круглой рамкой, окрашено в красный цвет). а – окраска гематоксилином и эозином; б – иммуногистохимическая реакция с цитомегаловирусными антителами; в – окраска по Цилю-Нельсену. а, б – $\times 200$; в – $\times 1000$

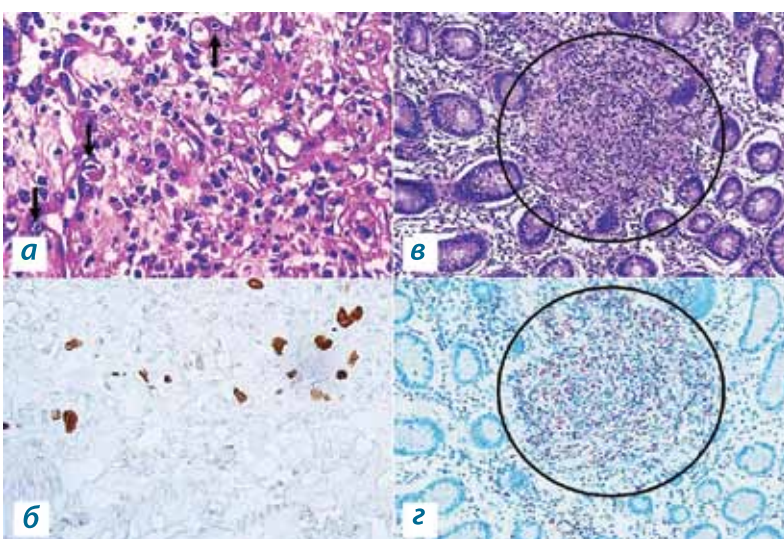


Рис. 12. Группа 1. Сочетанное поражение. Цитомегаловирусная инфекция и нетуберкулезный микобактериоз МАС. Толстая кишка: а) клетки с цитомегалической трансформацией в слизистой оболочке (указаны стрелками); б) клетки, пораженные цитомегаловирусом; окрашены в коричневый цвет; в) гранулемоподобная структура (обведена круглой рамкой); г) кислотоустойчивые бактерии в цитоплазме макрофагов гранулемоподобной структуры, окрашены в красный цвет). а, в – окраска гематоксилином и эозином; б – иммуногистохимическое исследование с цитомегаловирусными антителами; г – окраска по Цилю-Нельсену; а, б – $\times 400$; в, г – $\times 100$

характеризовалась формированием гранулематозного воспаления.

3) В исследуемой группе биопсий от больных ВИЧ-инфекцией в ст. 4 Б-В выявлен более широкий спектр инфекций, подавляющее большинство из которых являются

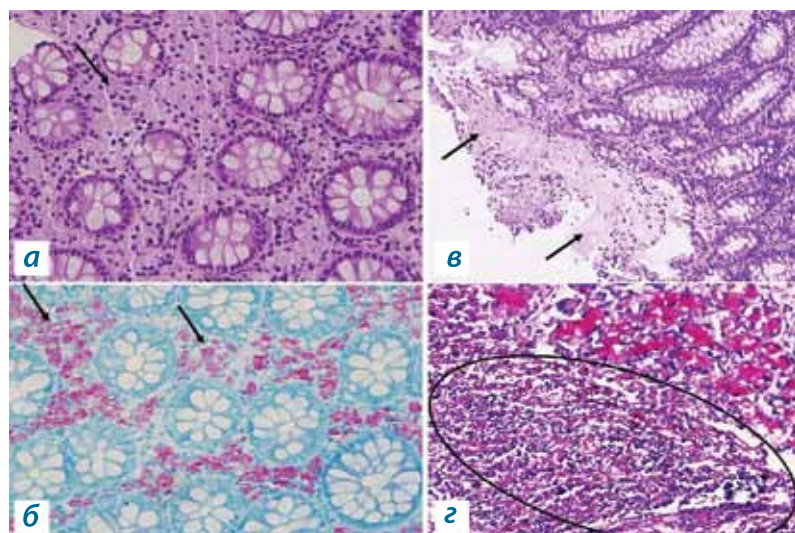


Рис. 13. Группа 1. Сочетанное поражение. Нетуберкулезный микобактериоз МАС и микотическое поражение. Толстая кишка: а) выраженная макрофагальная реакция в собственной пластинке слизистой оболочки при НТМБ МАС (указаны стрелками); б) кислотоустойчивые бактерии в цитоплазме макрофагов (указаны стрелками); в) дефект слизистой оболочки (указан стрелками); г) структуры гриба в области дефекта (обведено овальной рамкой, нитевидные структуры малиново-красного цвета). а, в – окраска гематоксилином и эозином; б – окраска по Цилю-Нельсену; г – ШИК-реакция. $\times 400$

ВИЧ-ассоциированными оппортунистическими заболеваниями (туберкулез, НТМБ МАС, цитомегаловирусная инфекция, микозы, сочетанные поражения) – 80,9%, со значительным преобладанием туберкулеза (50%).

4) Микроскопические признаки туберкулеза в группе с ВИЧ были крайне «стерты» или отсутствовали. Туберкулезное воспаление при обзорной микроскопии было идентично подострому или гнойному воспалению, с практически полным отсутствием элементов гранулематозного воспаления. Подтверждение этиологии процесса проводилось гистобактериоскопическим, иммуногистохимическим и молекулярно-биологическим методами. Отмечена нетипичная (редкая) для туберкулеза локализация поражения (пищевод, желудок, двенадцатиперстная кишка).

5) Микобактериозы, вызванные нетуберкулезными микобактериями (13,9%), представлены *M. avium complex* (МАС). Отмечено преимущественное поражение органов брюшной полости – брюшины, печени, мезентериальных лимфатических узлов, тонкой и толстой кишки. Общее количество случаев с микобактериальным поражением (туберкулез и НТМБ) составило 63,9%. Микроскопическая картина НТМБ МАС была затруднена вследствие преобладания макрофагального ком-

понента в очагах воспаления, что имело сходство с процессом «неспецифического» характера или гистиоцитарными новообразованиями.

6) В группе биопсий от больных ВИЧ-инфекцией 11,1% морфологически установлено сочетанное инфекционное поражение, вызванное различными видами возбудителей, с преобладанием сочетания туберкулез и цитомегаловирусная инфекция (50% от всех сочетанных поражений). Из инфекций, представляющих спектр сочетанных поражений в целом, также преобладали туберкулез и цитомегаловирусная инфекция.

Заключение

Биопсийный эндоскопический материал, несмотря на его малые размеры и малое количество, крайне информативен при морфологическом исследовании. Спектр инфекционных процессов, выявляемых в биопсийном материале на поздних стадиях ВИЧ-инфекции, достаточно широк, имеется возможность диагностировать и сочетанные поражения.

Малый размер изучаемого тканевого фрагмента, срочность исследования, невозможность провести повторное эндоскопическое исследование в виду тяжести состояния пациента или отказ больного от манипуляции диктуют необходимость использовать весь арсенал морфологических методов исследования для выявления микроскопических проявлений инфекционного процесса. Без проведения комплексного исследования в большинстве случаев крайне сложно диагностировать ВИЧ-ассоциированные микобактериальные поражения, а также сочетанные инфекционные процессы.

Следует учитывать возможность нетипичной морфологической картины инфекционного заболевания, протекающего в условиях глубокой иммуносупрессии, нехарактерную локализацию изменений и приложить максимум усилий для выявления инфекционного агента. Кроме того, технологические особенности современной обработки эндоскопического материала дают возможность получить патологоанатому необходимую информацию в течение нескольких дней и даже часов, что может быть очень важно при тяжелом состоянии больного и невозможности проведения инструментальных методов исследования.

Литература

1. ВОЗ ВИЧ/СПИД [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/> (Дата обращения 25.06.21).
2. Зими́на В.Н. Совершенствование диагностики и эффективность лечения туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией при различной степени иммуносупрессии: Дисс. ... д-ра мед. наук. – М., 2012. – 299 с.
3. Зими́на В.Н., Васи́льева И.А., Кра́вченко А.В., Зю́зя Ю.Р., Само́йлова А.Г. Диагностика туберкулеза больных ВИЧ-инфекцией // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 10. – С. 3-10.

4. Зюзя Ю.Р., Зими́на В.Н., Пархоменко Ю.Г., Альварес Фигероа М.В., Долгова Е.А. Корреляция морфологических признаков туберкулеза и состояния иммунного статуса при ВИЧ-инфекции // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 11. – С. 48-53.
5. Зюзя Ю.Р., Зими́на В.Н., Альварес Фигероа М.В., Пархоменко Ю.Г., Долгова Е.А. Морфологическая характеристика ВИЧ-ассоциированного туберкулеза в зависимости от количества CD4+-лимфоцитов в периферической крови // Архив патологии. – 2014. – № 5. – С. 33-37.
6. Зюзя Ю.Р., Пархоменко Ю.Г., Зими́на В.Н., Альварес Фигероа М.В. Морфологическая верификация ВИЧ-ассоциированного микобактериоза, вызванного нетуберкулезными микобактериями *Myc. avium complex* // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2015. – № 3. – С. 11-21.
7. Зюзя Ю.Р., Кузина М.Г., Пархоменко Ю.Г. Морфологические особенности микобактериозов, вызванных нетуберкулезными микобактериями // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2017. – № 4. – С. 4-14.
8. Морфологические аспекты ВИЧ-инфекции / Ю.Г. Пархоменко, Ю.Р. Зюзя, А.И. Мазус. – М.: Литтерра, 2016. – 168 с.
9. Пархоменко Ю.Г., Зюзя Ю.Р. Патологоанатомическая диагностика ВИЧ-ассоциированных инфекций. Методические рекомендации. – М.: 4МПРЕСС, 2012. – 80 с.
10. Статистика ВИЧ в мире. [Электронный ресурс]. URL: <https://theworldonly.org/> (Дата обращения 23.06.21).
11. Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Справка ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2020 г. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.hivrussia.info/> (Дата обращения 23.06.21).
12. Цинзерлинг В.А., Зюзя Ю.Р., Карев В.Е., Пархоменко Ю.Г. Посмертная и прижизненная патолого-анатомическая диагностика болезни, вызванной ВИЧ (ВИЧ-инфекции). – Практическая медицина, 2021. – 89 с.
13. Цинзерлинг В.А. Важнейшие проблемы морфологической диагностики ВИЧ-инфекции // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия. – 2009. – № 2. – С. 31-37.
14. Цинзерлинг В.А., Комарова Д.В., Рахманова А.Г., Яковлев А.А., Леонова О.Н. Актуальные проблемы морфологической диагностики и патоморфоз ВИЧ-инфекции // Архив патологии. – 2010. – № 2. – С. 26-30.
15. ЮНЭЙДС Информационный бюллетень. Глобальная статистика по ВИЧ (Информационный бюллетень 2021 г). Предварительные эпидемиологические оценочные данные ЮНЭЙДС 2021. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.unaids.org/> (Дата обращения 23.06.21).
16. Zinserling V. Infectious pathology of the respiratory tract. – Springer International Publishing, 2021. – 259 p.

Сведения об авторе

Зюзя Юлия Рашидовна – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ», кандидат медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. +7 (916) 550-28-95

e-mail: zuzaju@mail.ru