

КОРРЕЛЯЦИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ТУБЕРКУЛЕЗА И СОСТОЯНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Ю. Р. ЗЮЗЯ^{1,2}, В. Н. ЗИМИНА¹, Ю. Г. ПАРХОМЕНКО^{2,3}, М. В. АЛЬВАРЕС ФИГЕРОА^{4,5}, Е. А. ДОЛГОВА^{1,3}

CORRELATION BETWEEN THE MORPHOLOGICAL SIGNS OF TUBERCULOSIS AND THE IMMUNE STATUS IN HIV INFECTION

YU. R. ZYUZYA^{1,2}, V. N. ZIMINA¹, YU. G. PARKHOMENKO^{2,3}, M. V. ALVARES FIGEROA^{4,5}, E. A. DOLGOVA^{1,3}

¹ГКУЗ «Московский научно-практический центр борьбы с туберкулезом» Департамента здравоохранения г. Москвы

²ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН, г. Москва

³ГКУЗ «Инфекционная клиническая больница № 2» Департамента здравоохранения г. Москвы

⁴НИИ фтизиопульмонологии ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова»,

⁵ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва

С целью определения корреляции между уровнем иммуносупрессии и микроскопическими признаками туберкулеза у больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом (ВИЧ/ТБ) проведено комплексное морфологическое исследование операционного и биопсийного материала от 148 больных, секционного материала 181 умершего. Выявлена зависимость между количеством CD4⁺-лимфоцитов и преобладающим типом тканевой воспалительной реакции. Стертость грануломатозного воспаления, преобладание альтеративного и эксудативного компонента в фокусах туберкулезного воспаления свидетельствовали о смене реакции гиперчувствительности замедленного типа, типичной для туберкулеза, реакцией гиперчувствительности немедленного типа и отражало тяжелую дисфункцию иммунной системы. Ареактивность макроорганизма при практически полном отсутствии CD4⁺-лимфоцитов, наблюдавшем при изучении секционных случаев, приводила к острому прогрессированию и генерализации туберкулеза с поражением всех органов и систем.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, туберкулез, патологическая анатомия, иммуносупрессия.

Comprehensive morphological examination of surgical and biopsy samples from 148 patients and autopsy specimens from 181 deceased persons was made to determine a correlation between the level of immunosuppression and the microscopic signs of tuberculosis in patients with HIV-associated tuberculosis (HIV/TB). A relation was found between the count of CD4⁺ lymphocytes and the predominant type of a tissue inflammatory reaction. Insidious granulomatous inflammation and a preponderance of alternative and exudative components in the foci of tuberculous inflammation suggested that a delayed-type hypersensitivity response that was typical of tuberculosis gave way to an immediate-type hypersensitivity response and reflected severe immune system dysfunction. The lack of responsiveness of the macroorganism in the virtually complete absence of CD4⁺ lymphocytes observed during autopsy examination led to the acute progression and generalization of tuberculosis, by affecting all organs and systems.

Key words: HIV infection, tuberculosis, pathological anatomy, immunosuppression.

В отличие от большинства вторичных заболеваний, возникающих при выраженному иммунодефиците, туберкулез может развиваться на любой стадии ВИЧ-инфекции и при любом числе CD4⁺-лимфоцитов [9, 14]. По мнению M. Badri, более чем в половине случаев туберкулез легких возникает у пациентов с числом CD4⁺-лимфоцитов более 200 кл/мкл [10]. Однако остропрогрессирующий генерализованный туберкулез характерен для больных с выраженным иммунодефицитом [11, 12, 15]. При этом морфология туберкулезного воспаления тесно связана с состоянием иммунной системы макроорганизма больного и в значительной степени зависит от него. Еще в 1988 г. было замечено, что при гистологическом исследовании тканей у больных СПИДом, умерших от туберкулеза, как правило, не обнаруживают классических специфических гранулем [5, 9, 13]. Уменьшение признаков специфического туберкулезного воспаления значительно затрудняет диагностику, а морфологическая картина становится похожей

на абсцедирующую бактериальную или септическую пневмонию, микотическое поражение [3, 4, 7]. ВИЧ-инфекция и туберкулез имеют эпидемическую и патогенетическую общность, оказывая взаимоусугубляющее патологическое воздействие на макроорганизм, изменяя морфологию туберкулезного воспаления. Однако к настоящему времени не изучена информативность морфологических методов исследования у больных ВИЧ-инфекцией при различной степени иммуносупрессии.

Цель исследования – определение корреляции между уровнем иммуносупрессии и морфологической картиной туберкулеза у больных ВИЧ-ассоциированным туберкулезом.

Материалы и методы

Изучены операционный и биопсийный материал от 148 больных ВИЧ-инфекцией в стадии 4B с наличием туберкулеза в качестве вторичного заболевания (ВИЧ/ТБ), а также секционный ма-

териал 181 умершего от ВИЧ-ассоциированного туберкулеза.

Комплексному морфологическому исследованию подвергся следующий операционно-биопсийный материал: мезентериальные, периферические, внутргрудные лимфатические узлы, печень, брюшина, слизистая оболочка желудка, толстой кишки, селезенка, легочная ткань, слизистая оболочка бронха, кожа. Медиана числа CD4⁺-лимфоцитов в периферической крови у больных ВИЧ/ТБ составила 122 кл/мкл (среднее значение 156,0 ± 98,9 кл/мкл), при этом у 103 (69,6%) человек их число не превышало 200 кл/мкл. Пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от степени иммуносупрессии. В группу Б1 включены 16 (10,8%) человек, у которых число CD4⁺-лимфоцитов составило более 350 кл/мкл, в группу Б2 – 38 (25,7%) пациентов с числом CD4⁺-лимфоцитов в диапазоне от 200 до 349 кл/мкл, группу Б3 составили 94 (63,5%) пациента с числом CD4⁺-лимфоцитов менее 200 кл/мкл.

У 181 умершего от ВИЧ-ассоциированного туберкулеза во время проведения аутопсии для гистологического исследования забирали материал всех органов. Число CD4⁺-лимфоцитов в периферической крови в группе умерших насчитывало от 0 до 100 кл/мкл, причем в 143 (79%) случаях оно было крайне низким, менее 50 кл/мкл.

При изучении материала использовали гистологический метод, иммуногистохимическое исследование (ИГХ), метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Полученные кусочки внутренних органов фиксировали в 10% забуференном формалине, обрабатывали по стандартной методике, гистологические срезы толщиной 3-5 микрон окрашивали обзорной окраской гематоксилином и эозином по ван Гизону для выявления коллагеновых волокон и определения морфологических признаков организации, проводили гистобактериоскопию по Цилю – Нельсону для обнаружения кислотоустойчивых бактерий, по Броун – Хоппсу для выявления грамположительной и грамотрицательной микрофлоры, ШИК-реакцию для дифференциальной диагностики с микотическими процессами, которые, как и туберкулез, относят к грануломатозным. Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) выполняли в соответствии с протоколом, использовали *M. tuberculosis mouse monoclonal antibody, clone 1.1/3/1, Vector*. Для проведения ПЦР-исследования материала из парафиновых блоков использовали наборы реагентов «РИБО-преп» и «АмплиСенс® МТС-FL» производства ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора. Реакцию проводили в соответствии с инструкцией производителя. Статистическую обработку материалов исследования выполняли с помощью программы «Biostat», за величину уровня статистической значимости принимали значение $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В зависимости от преобладания фазы воспаления все анализируемые случаи по характеру тканевых реакций были разделены на IV типа. I тип – типичное продуктивное грануломатозное туберкулезное воспаление (рис. 1); II тип – стертое продуктивное грануломатозное воспаление (рис. 2, 3); III тип – преобладание альтеративной фазы с формированием гнойно-некротических очагов (рис. 4); IV тип – преобладание экссудативной тканевой реакции с развитием морфологической картины, характерной для неспецифического воспаления (рис. 5, 6). Количественные показатели выявленных типов тканевых воспалительных реакций по данным операционно-биопсийных исследований у больных ВИЧ-инфекцией и туберкулезом представлены на рис. 7.

Комплексный морфологический анализ операционно-биопсийного материала от 148 больных ВИЧ-инфекцией и туберкулезом позволил выявить зависимость между числом CD4⁺-лимфоцитов и преобладающим типом тканевой воспалительной реакции. В группе Б1, у пациентов которой число CD4⁺-лимфоцитов составило более 350 кл/мкл, преобладал продуктивный компонент воспаления. При количестве CD4⁺-лимфоцитов 200-350 кл/мкл (группа Б2) превалировала слабо выраженная продуктивная реакция со значительной стертостью черт грануломатозного процесса. Тяжелый иммунодефицит с содержанием CD4⁺-лимфоцитов менее 200 кл/мкл (группа Б3) у большинства пациентов сопровождался развитием альтеративной тканевой реакции, которая проявлялась некротическими изменениями. Группа Б2 занимала промежуточное положение: при преобладании биоптатов со стертым грануломатозным воспалением встречались как случаи с хорошо выраженным продуктивным компонентом, так и наблюдения с преимущественно альтеративной или экссудативной реакцией (рис. 7).

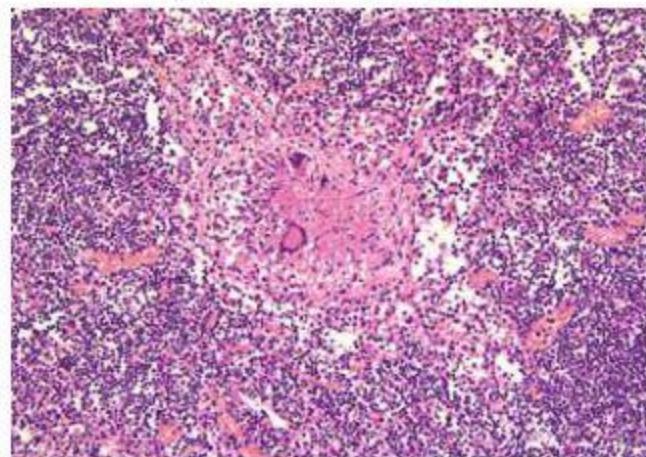


Рис. 1. Типичная туберкулезная гранулома в лимфатическом узле. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

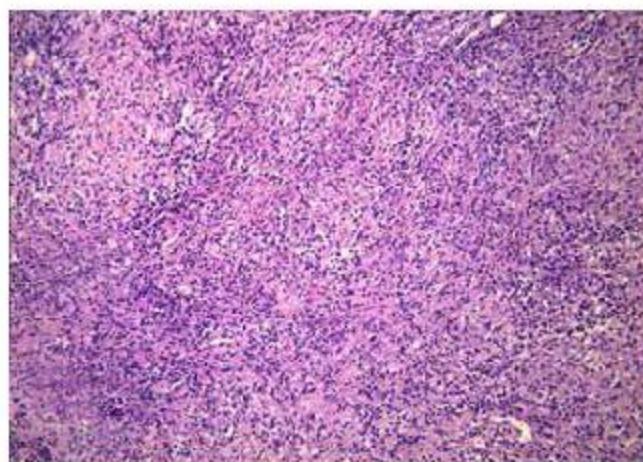


Рис. 2. Стертое гранулематозное воспаление в лимфатическом узле с формированием мелких нечетких гранулематодобных структур. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

Общее число больных ВИЧ/ТБ с продуктивным воспалением (I тип) составило 10,8% (16 человек). Такая морфологическая картина встречена нами у большинства пациентов группы Б1 (10 человек, 62,6%, $p < 0,05$ с группами Б2 и Б3) и у некоторых больных группы Б2 (6 человек, 15,8%). У пациентов с числом CD4⁺-лимфоцитов менее 200 кл/мкл (Б3) признаков типичного гранулематозного воспаления не наблюдалось (рис. 7, табл.).

Материал со слабо выраженным продуктивным компонентом (II тип) обнаружен во всех группах. Общее число пациентов из всех трех групп (Б1, Б2, Б3) с данной тканевой реакцией составило 61 (41,2%) человек. В группе Б1 – 6 (37,5%) человек, у пациентов с количеством CD4⁺-лимфоцитов от 200 до 349 кл/мкл (Б2) стертое гранулематозное воспаление превалировало (21 человек, 55,2%), в группе с тяжелым иммунодефицитом (Б3) нечеткие гранулематозные изменения установлены почти в $\frac{1}{3}$ случаев (34 человека; 36,2%).

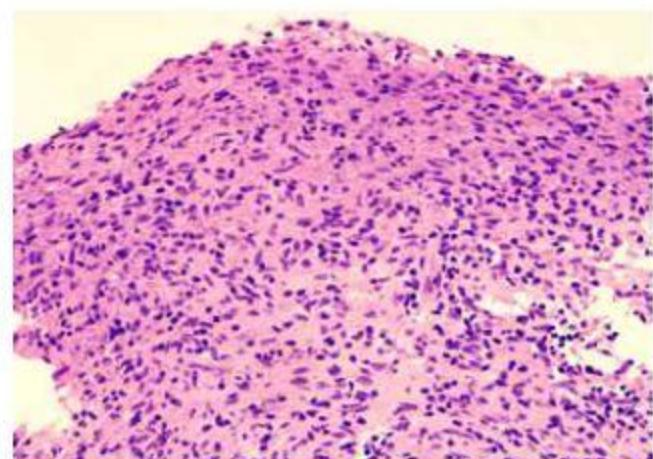


Рис. 3. Стертое гранулематозное воспаление слизистой оболочки бронха с наличием эпителиоидных клеток, не формирующих гранулемы. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

Альтеративная тканевая реакция (III тип) констатирована у 48 (32,4%) больных ВИЧ/ТБ, при этом подобный тип клеточных реакций наблюдали только у пациентов группы Б3 (43 человека, 45,7%) и Б2 (5 человек, 13,2%), ($p < 0,05$ группы Б1c группами Б2 и Б3).

Преобладание экссудативных изменений (IV тип) с микроскопическими изменениями по типу неспецифического воспаления (по морфологическим проявлениям) зафиксировано в 23 (15,6%) случаях, примерно в равных количествах в группах Б2 и Б3 – 15,8% (6 человек) и 18,1% (17 человек) соответственно (ввиду небольшого количества наблюдений достоверных различий между группами не выявлено, $p > 0,05$ между группами Б2 и Б3). У пациентов группы Б1 с числом CD4⁺-лимфоцитов более 350 кл/мкл описанной тканевой реакции не выявлено ни в одном наблюдении (рис. 7, табл.).

Комплексное морфологическое исследование операционно-биопсийного материала у больных ВИЧ/ТБ с идентификацией возбудителя туберкулеза в тканях (гистобактериоскопия по Цилю – Нельсону, ИГХ, ПЦР-исследование), повышало эффективность достоверной этиологической диагностики, что особенно ценно при утрате признаков специфического воспаления. Скрининговая гистобактериоскопия с окраской по Цилю – Нельсону определяла возбудителей семейства кислото- и спиртоустойчивых бактерий (семейство *Mycobacteriaceae*), к которому относятся и микобактерии туберкулеза (рис. 6). ИГХ-исследование с антителами *M. tuberculosis* позволило подтвердить принадлежность выявленных при окраске по Цилю – Нельсону бактерий к роду *Mycobacterium*, включающего возбудителей как туберкулеза, так и микобактериозов (рис. 8). Необходимо отметить, что чувствительность этих методов у больных ВИЧ/ТБ высока. Кислотоустойчивые бактерии

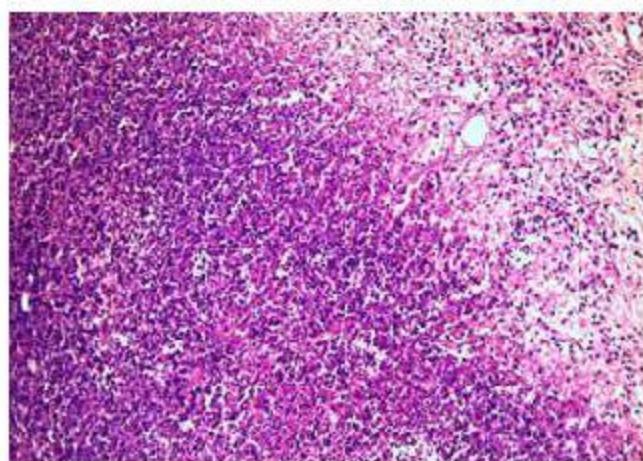


Рис. 4. Гнойно-некротический фокус воспаления (туберкулезный лимфаденит). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

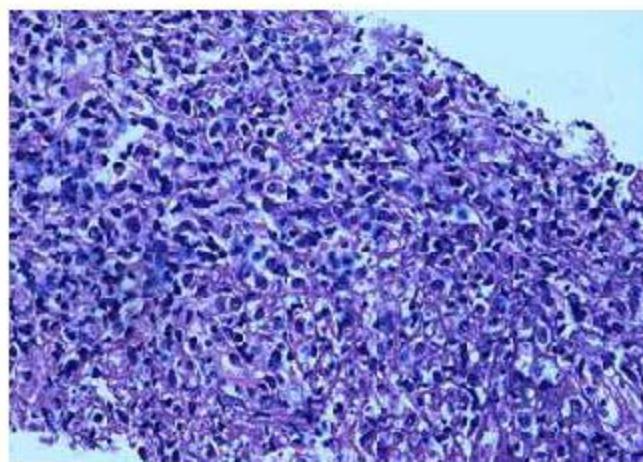


Рис. 5. Туберкулезное воспаление плевры при низком иммунном статусе больного, имеющее микроскопическую картину неспецифического гнойного плеврита. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

при гистобактериоскопии обнаружены у 51 из 71 обследованных (71,8%), при ИГХ – в 18 случаях из 20 (90,0%). Применение гистобактериоскопии по Цилю – Нельсону у лиц с сохранным иммунным статусом эффективно приблизительно в 40% случаев [2, 8].

С целью увеличения эффективности этиологической диагностики туберкулеза применяли метод ПЦР, позволяющий обнаруживать в материале из парафинового блока ДНК возбудителя туберкулеза. Высокая специфичность ме-

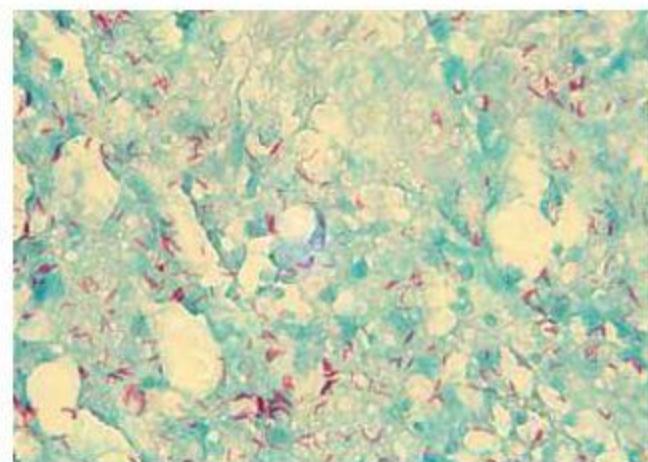


Рис. 6. Гистобактериоскопия по Цилю – Нельсону, в плевре большое количество кислотоустойчивых бактерий. Окраска по Цилю – Нельсону, $\times 1000$ (иммерс.)

тода ПЦР позволила точно дифференцировать микроорганизмы рода *Mycobacterium* до вида *M. tuberculosis* в материале из парафиновых блоков (из 17 пациентов положительный результат получен в 11 случаях – 65%).

Анализ секционного материала 181 умершего от ВИЧ-ассоциированного туберкулеза показал значительное превалирование генерализованного туберкулеза (171 человек, 94,5%), другие формы туберкулеза были встречены в незначительном количестве, в порядке убывания они

Таблица

Распределение больных ВИЧ/ТБ по типу воспалительной реакции, преобладающей в биоптатах в зависимости от степени иммуносупрессии

Преобладающий тип воспалительной реакции		Группа Б3, CD4 < 200		Группа Б2, CD4: 200-349		Группа Б1, CD4 ≥ 350	
		n	%	n	%	n	%
I	Грануломатозное воспаление с явлениями организации	0	0	2	5,3	3	18,8 ^{*1}
	Грануломатозное воспаление с формированием кавеозного некроза в центре гранулем	0	0	4	10,5	7	43,7 ^{*1}
Итого больных с I типом воспалительных реакций		0	0	6	15,8 ^{*1,2}	10	62,5 ^{*1,2}
II	Стертий характер грануломатозного воспаления без кавеозного некроза	8	8,5 ^{*3}	6	15,8	6	37,5 ^{*1}
	Стертий характер грануломатозного воспаления с участками кавеозного некроза	23	24,5	13	34,2 ^{*1}	0	0
	Тяжи эпителиоидных клеток без формирования гранулем	3	3,2	2	5,2	0	0
Итого больных со II типом воспалительных реакций		34	36,2	21	55,2	6	37,5
III	Гнойно-некротическое воспаление	43	45,7 ^{*2,3}	5	13,2 ^{*3}	0	0
IV	Изменения по типу неспецифического воспаления	17	18,1	6	15,8	0	0
Всего больных:		94	100	38	100	16	100
№ столбцов			1		2		3

Примечание: * – разница достоверна между столбцами, указанными цифрами ($p < 0,05$).

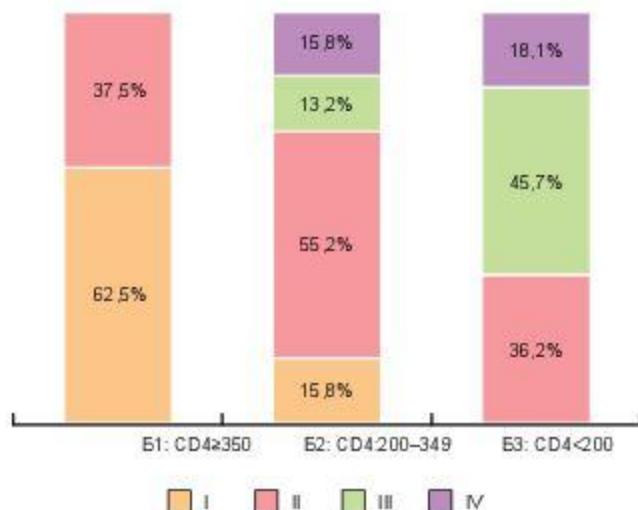


Рис. 7. Распределение больных ВИЧ/ТБ в зависимости от степени иммунодепрессии и типа преобладающей фазы воспалительной тканевой реакции

располагались следующим образом: диссеминированный туберкулез легких (8 человек, 4,4%), фиброзно-кавернозный туберкулез легких (2 человека, 1,1%). По данным литературы, в случаях смерти от туберкулеза без ВИЧ-инфекции преобладал фиброзно-кавернозный туберкулез легких (48,4%), а генерализованный туберкулез располагался лишь на 4-м месте по частоте встречаемости и составлял 7,2% [6].

При гистологическом исследовании секционного материала установлено туберкулезное поражение практически всех органов с преимущественно субмилиарной, милиарной и мелкоочаговой диссеминацией. Во всех случаях констатирована потеря черт специфического воспаления, что характеризовалось альтеративными изменениями с формированием гнойно-некротических фокусов при полном отсутствии продуктивной грануломатозной реакции. Отсутствие продуктивного компонента воспаления привело к нарушению процессов фиброзирования и ограничения очагов туберкулезного воспаления и стремительному прогрессированию туберкулеза. Мономорфность туберкулезных очагов без признаков волнообразности течения специфического процесса подтверждала одинаковую давность возникновения воспалительных фокусов и скорость развития генерализации туберкулеза.

Вовлечение в туберкулезный процесс множества систем и органов, а также преобладание милиарного характера диссеминации с периваскулярным расположением очагов, развитие реактивного и туберкулезного васкулитов характеризовали гематогенную генерализацию туберкулеза. Однако, учитывая наличие казеозного лимфаденита всех групп лимфатических узлов, что является проявлением лимфогенной генерализации, можно говорить о смешанной

лимфогематогенной генерализации туберкулезного процесса при ВИЧ-инфекциии.

Гистобактериоскопия по Цилю – Нельсону выявляла в большом количестве кислотоустойчивые бактерии в гнойно-некротических очагах, в том числе в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов. Иммуногистохимическая реакция с использованием моноклональных антител *M. tuberculosis* подтвердила принадлежность возбудителя к роду *Mycobacterium*.

Заключение

Таким образом, на основании комплексного морфологического изучения операционно-биопсийного и секционного материала с применением дополнительных методов исследования для верификации возбудителя (гистобактериоскопического, иммуногистохимического, молекулярно-генетического) установлена четкая корреляция между уровнем иммунодепрессии у больного ВИЧ/ТБ и преобладающим типом тканевой реакции. У большинства пациентов (89,2%, 132 человека) в операционно-биопсийном материале констатированы стертая грануломатозная реакция (41,2%, 61 человек), преобладание альтеративного (32,4%, 48 человек) и сосудистого компонента воспаления с выраженным экссудативными изменениями (15,6%, 23 человека), что обусловлено нарушением иммунного баланса (рис. 7).

Полученные результаты патолого-анатомического исследования, констатирующего угнетение грануломатозной реакции, подтверждают данные ряда авторов об угнетении клеточного звена иммунитета, неполноценной дифференцировке клеток, снижении числа и функциональной активности макрофагов при ВИЧ-ассоциированном туберкулезе [1, 5].



Рис. 8. Микобактерии в лимфатическом узле. Иммуногистохимическая реакция с антителами *M. tuberculosis mouse monoclonal antibody, clone 1.1/3/1, Vector*. $\times 1000$ (иммерс.)

Преобладание альтеративного и экссудативного компонента в фокусах туберкулезного воспаления свидетельствовало о смене реакции гиперчувствительности замедленного типа, типичной для туберкулеза, реакцией гиперчувствительности немедленного типа и отражало тяжелую дисфункцию иммунной системы. Полная ареактивность макроорганизма при практически полном отсутствии CD4⁺-лимфоцитов, наблюдавшем при изучении секционных случаев, приводила к генерализации туберкулеза с поражением всех органов и систем и остройшим его прогрессированию.

ЛИТЕРАТУРА

1. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение / Под. ред. В. В. Покровского. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. – 488 с.
2. Грибберг Л. М., Баранова Е. Ю., Кондрашов Д. Л. Гистобактериоскопия в морфологической диагностике туберкулеза легких. Пособие для врачей. – Екатеринбург, 2005. – 18 с.
3. Пархоменко Ю. Г., Зюзя Ю. Р., Тишкевич О. А. Патология легких при ВИЧ-ассоциированных инфекциях // Арх. патологии. – 2008. – № 6. – С. 44-48.
4. Пархоменко Ю. Г., Зюзя Ю. Р., Флигиль Д. М. Дифференциальная диагностика деструктивных поражений легких при ВИЧ-ассоциированных инфекциях // Арх. патологии. – 2011. – № 1. – С. 9-12.
5. Туберкулез. Патогенез, защита, контроль: Пер. с англ. / Под. ред. Барри Р. Блума. – М.: Медицина, 2002. – 696 с.
6. Флигиль Д. М. Патоморфоз и морфологическая характеристика диссеминированного туберкулеза легких в столичном мегаполисе Москва. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2006. – 32 с.
7. Цинзерлинг В. А., Комарова Д. В., Васильева М. В. и др. Патологическая анатомия ВИЧ-инфекции по материалам Санкт-Петербурга // Арх. патологии. – 2003. – № 1. – С. 42-45.
8. Эллишид В. Н., Ариаль Б. М., Самусенко И. А. и др. Иммуногистохимический метод в диагностике туберкулеза // Арх. патологии. – 2007. – № 5. – С. 36-38.
9. Ackah A. N., Coulibaly D., Digbeu H. et al. Response to treatment, mortality, and CD4 lymphocyte counts in HIV-infected persons with tuberculosis in Abidjan, Côte d'Ivoire // Lancet. – 1995. – Vol. 345. – P. 607-610.
10. Badri M., Ehrlich R., Wood R. et al. Association between tuberculosis and HIV disease progression in a high tuberculosis prevalence area // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2001. – № 5. – P. 225-232.
11. Elliott A. M., Halwiindi B., Hayes R. J. et al. The impact of human immunodeficiency virus on response to treatment and recurrence rate in patients treated for tuberculosis: two-year follow-up of a cohort in Lusaka, Zambia // J. Trop. Med. Hyg. – 1995. – Vol. 98, № 1. – P. 9-21.
12. Kingkaew N., Sangtong B., Amnuaiphon W. et al. HIV-associated extrapulmonary tuberculosis in Thailand: epidemiology and risk factors for death // Int. J. Infect. Dis. – 2009. – Vol. 13, № 6. – P. 722-729.
13. Nambuya A., Sewankambo N., Migerwa J. et al. Tuberculosis lymphadenitis among persons infected with human immunodeficiency virus (HIV) in Uganda // J. Clin. Pathol. – 1988. – Vol. 41. – P. 93-96.
14. Perronne C., Ghouboubni A., Leport C. et al. Should pulmonary tuberculosis be an AIDS-defining diagnosis in patients infected with HIV? // Tuber. Lung Dis. – 1992. – Vol. 73, № 1. – P. 39-44.
15. Wood R., Maartens G., Lombard C. J. Risk factors for developing tuberculosis in HIV-1-infected adults from communities with a low or very high incidence of tuberculosis // J. AIDS. – 2000. – Vol. 23. – P. 75-80.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Зюзя Юлия Рашидовна

КГУЗ «Московский научно-практический центр борьбы с туберкулезом»
Департамента здравоохранения города Москвы,
кандидат медицинских наук,
заведующая централизованным
патолого-анатомическим отделением.
Тел./факс: 8 (499) 268-25-30, 8 (499) 268-25-26.
107014, г. Москва, ул. Барбатова, д. 3, корп. 22.
E-mail: zugaju@mail.ru

Поступила 03.02.2014