

Морфологические особенности пневмоцистной пневмонии при ВИЧ-инфекции

1 – ГКУЗ "Инфекционная клиническая больница № 2 ДЗ г. Москвы": 105275, г. Москва, 8-я улица Соколиной Горы, 15;

2 – ГКУЗ "Туберкулезная клиническая больница № 7 ДЗ г. Москвы": 107014, Москва, ул. Барболина, 3;

3 – Учреждение РАМН "НИИ морфологии человека": 117418, Москва, ул. Цюрупы, 3;

4 – ФГБУ "ЦНИИ туберкулеза" РАМН: 107564, Москва, Яузская аллея, 2

Yu.R.Zyuzya, Yu.G.Parkhomenko, V.N.Zimina, O.A.Tishkevich

Morphological features of pneumonia caused by *Pneumocystis* in HIV-infected patients

Summary

In our study, pneumonia caused by *Pneumocystis* comprised 7.1 % of all autopsies of patients died from HIV-associated infections and was the forth cause of death following tuberculosis (35.6 %), bacterial pneumonia (16.5 %), and infectious endocarditis (10.8 %). Acute stage was more frequent (73.1 %); cavitory pneumonia was diagnosed in 7.7 % autopsies, generalized *Pneumocystis* infection was found in 3.8 % of cases. In 7.7 % of cases, the course of *Pneumocystis* pneumonia was complicated by diffuse alveolar damage. Advanced stages of *Pneumocystis* pneumonia should be differentiated from organizing bacterial pneumonia, pulmonary tuberculosis, and cytomegalovirus infection. In died HIV-infected patients with combined pulmonary infection, *Pneumocystis* was found in 27.6 % of cases. Advanced stages of pneumonia caused by *Pneumocystis* and combined pulmonary infection are difficult for morphological diagnosis and require a complex of modern investigations.

Key words: HIV-infection, Pneumonia caused by *Pneumocystis*, generalized *Pneumocystis* infection, morphological diagnosis.

Резюме

Пневмоцистная пневмония (ПЦП) составила 7,1 % от количества всех вскрытий умерших от ВИЧ-ассоциированных инфекций и занимает в структуре смертности 4-е место после туберкулеза (35,6 %), бактериальной пневмонии (16,5 %), инфекционного эндокардита (10,8 %). Превалировала отечная стадия ПЦП (73,1 %), в 7,7 % аутопсий констатирована кавернозная форма заболевания, в 3,8 % – генерализованный пневмоцистоз. В 7,7 % течение ПЦП осложнилось развитием диффузного альвеолярного повреждения. На поздних стадиях ПЦП необходимо морфологически дифференцировать с организацией при бактериальной пневмонии, туберкулезе, цитомегаловирусной инфекции. В 27,6 % случаев сочетанного инфекционного поражения легких у умерших от ВИЧ-инфекции в составе ассоциации обнаруживалась ПЦП. Случаи поздней стадии ПЦП и сочетанного поражения легких сложны для морфологической верификации, что требует использования комплекса современных исследований.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, пневмоцистная пневмония, генерализованный пневмоцистоз, морфологическая диагностика.

При ВИЧ-инфекции в структуре вторичных заболеваний преобладают инфекционные и паразитарные процессы, достигая 89 % [1]. Пневмоцистная пневмония (ПЦП), вызываемая внеклеточным паразитом *Pneumocystis jiroveci* (прежнее название *P. carinii*), которого обычно рассматривают как простейшее, однако иногда относят к грибам класса аскомицетов, превратилась в серьезную проблему как ВИЧ-ассоциированная инфекция. Развитие ПЦП связано с поражением как гуморального, так и клеточного иммунитета, в т. ч. с лимфоцитозависимым дефектом макрофагов и не распознаванием ими размножающихся пневмоцист [2, 3]. Клетками-мишенями для пневмоцист являются альвеолоциты 1-го типа, поражение которых проявляется деструкцией клеток, нарушением целостности альвеолярной выстилки и развитием экссудативных явлений. Альвеолоциты 2-го типа активируются возбудителем при интенсивном размножении его в альвеолах с использованием специфических белков сурфактанта в процессе жизнедеятельности. При этом активность макрофагов направлена не на поглощение возбудителя, а на за-

щиту альвеол от избыточного заполнения материалом сурфактанта. При высокой поглотительной способности макрофагов протеолитические функции истощаются быстрее секреторных возможностей альвеолоцитов 2-го типа, что ведет к гиперпродукции сурфактанта, и это позволяет ряду авторов относить пневмоцистоз легких к функциональному альвеолярному липопротеинозу [3, 4].

В России ПЦП у больных ВИЧ-инфекцией имеет место в 3,2–7,1 % случаев, а в странах Западной Европы и США этот показатель значительно выше – до 60 % (возможно, из-за низкой заболеваемости туберкулезом), и летальность от ПЦП достигает 13 %. Но истинная частота пневмоцистоза, по мнению различных исследователей, остается неясной [5–8]. Заболевание, как правило, ограничивается поражением легких, но в случаях глубокой иммуносупрессии возможны и генерализованные формы. Значительно усложняет диагностику ПЦП сочетание с другими инфекционными поражениями. Полиинфекционное поражение легких на фоне ВИЧ-ассоциированной иммуносупрессии встречается у 8–28,7 %

пациентов [9–11]. Данные о комплексном патолого-анатомическом исследовании и морфологических особенностях ПЦП при тяжелом иммунодефиците, обусловленном ВИЧ-инфекцией, немногочисленны [12–15].

Материалы и методы

За период с 2008 по 2010 г. было проведено 1 103 аутопсийных исследования умерших от ВИЧ-ассоциированных инфекций. Из них с целью выявления морфологических особенностей ПЦП исследован материал от 78 умерших на поздних стадиях ВИЧ-инфекции при наличии в качестве вторичного заболевания ПЦП. Эти случаи в нашем исследовании составили 7,1 % и заняли 4-е место после туберкулеза (393 человека, 35,6 %), бактериальной пневмонии (182 / 16,5 %), инфекционного эндокардита (119 / 10,8 %). Из 1 103 аутопсийных исследований умерших от ВИЧ-ассоциированных инфекций сочетанные поражения легких были морфологически верифицированы у 145 человек, что составило 13,1 %. Из них ПЦП отмечена в составе сочетанного поражения в 40 случаях (27,6 %). Среди исследованных были 55 мужчин (70,5 %) и 23 женщины (29,5 %), средний возраст – 33 года. Исходное количество CD4⁺-лимфоцитов по медиане в дебюте заболевания – 60 клеток / мкл. При вскрытии кусочки внутренних органов фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, обрабатывали по стандартной методике, гистологические срезы толщиной 3–5 мк окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизону, Броун–Хоппсу, Грам–Вейгерту, Цилю–Нильсену, проводили ШИК-реакцию. Цитологические препараты изучали с окрасками по Романовскому–Гимзе, Цилю–Нильсену, Граму. Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) проводили в соответствии с протоколом, использовали антитела *Monoclonal Mouse Anti-Pneumocystis Jiroveci, clone 3F6*, DAKO; *Monoclonal Myc. Tuberculosis mouse monoclonal antibody, clone 1.1/3/1, Vector*; *Mouse Anti-Cytomegalovirus, clone CCH2+DDG9*, DAKO (иммуногистохимические исследования проводились на базе ГКУЗ ТКБ № 7 ДЗМ).

Результаты исследования

При макроскопическом исследовании легкие плотной-эластической, "резиновоподобной" плотности, серовато-красноватые или серовато-фиолетовые, безвоздушные, с гладкой блестящей, т. н. "стекловидной" гомогенной поверхностью разреза. При надавливании с поверхности разреза обильно стекают слизистые массы пенистого вида с геморрагическим оттенком. При обратном развитии ПЦП бывает довольно хорошо различим интерстиций в виде серовато-белесоватых несколько утолщенных прослоек, определяются участки карнификации.

Типичная морфологическая картина в виде гомогенного пенистого эозинофильного экссудата, содержащего цисты с дочерними формами и являюще-

гося патогномичным признаком ПЦП, наблюдалась в отечной стадии заболевания, длящейся в среднем 7–10 дней. Эти случаи превалировали в нашем исследовании (57 / 73,1 %) (рис. 1а). При окраске гистологических срезов легких по Грам–Вейгерту, Броун–Хоппсу фибрин в просвете альвеол не выявлялся, а цисты и внутрицистные тельца окрашивались базофильно. При использовании реактива Шиффа (ШИК-реакция) возбудитель окрашивался в розоватый цвет, при окраске по Романовскому–Гимзе – в синий. В цитологических препаратах мазков-отпечатков легкого или содержимого дыхательных путей с окраской по Романовскому–Гимзе

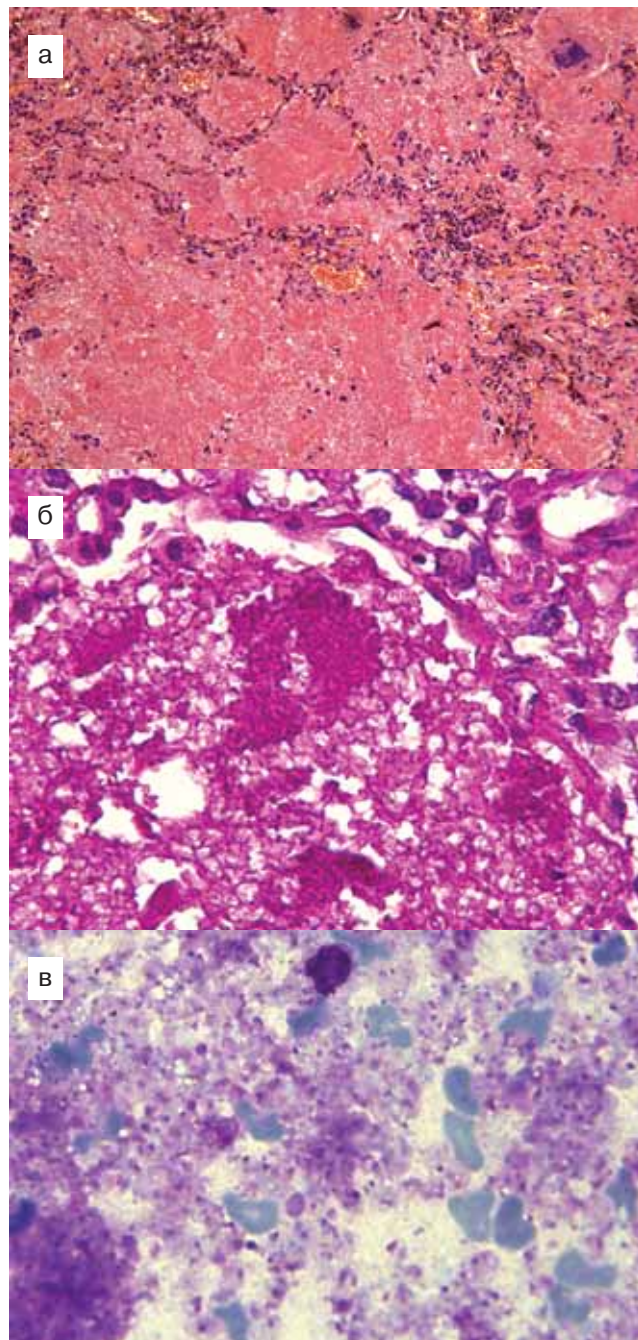


Рис. 1: а – в просвете альвеол пенистый эозинофильный экссудат с мелкими базофильными включениями (окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$); б – положительная ШИК-реакция экссудата альвеол ($\times 200$); в – мазок-отпечаток легкого с пневмоцистами (окраска по Романовскому–Гимзе; $\times 1\,000$)

цитоплазма возбудителя приобретала голубой цвет, а ядро — красновато-фиолетовый (рис. 1б, 1в).

Более сложна для морфологической диагностики ПЦП в развивающейся далее в течение 1–4 нед. ателектатической стадии. Она характеризовалась присоединением воспалительной инфильтрации интерстиция с возможным последующим разрушением альвеолярных перегородок, что встречалось обычно при рецидивирующем течении заболевания. У 6 умерших (7,7 %) констатировано формирование полостей распада, стенки которых представлены эозинофильными массами, идентичными по морфологической и гистобактериоскопической картине содержимому альвеол. В процессе организации белковых масс в стенках полостей могут формироваться мелкие кальцинаты, что микроскопически может быть ошибочно принято за организующиеся казеозно-некротические очаги при туберкулезе (рис. 2).

Наибольшие трудности в морфологической верификации ПЦП возникали при обратном развитии процесса, в т. н. "эмфизематозной стадии", продолжительность которой довольно вариабельна. Она характеризовалась формированием фиброзно-кистозных изменений, напоминающих фиброзирующий альвеолит, облитерацией бронхиол, чередованием ателектатических участков с эмфизематозно-расширенными альвеолами. При развитии в исходе ПЦП склеротических изменений микроскопическая картина в легких бывает сходной не только с организующейся карнифицирующей бактериальной пневмонией, но и с организацией перифокальных экссудативных явлений при заживающем туберкулезе, с интерстициальным фиброзом вследствие цитомегаловирусного поражения (ЦМВ). Обнаружение мелких скоплений пневмоцист в организующемся экссудате при иммуногистохимической реакции с применением моноклональных антител *Monoclonal Mouse Anti-Pneumocystis Jiroveci* позволило дифференцировать ПЦП и другие инфекционные процессы (рис. 3а–в).

Особый интерес представляли случаи генерализованного пневмоцистоза, которые в нашем исследовании составили 3,8 % (3 человека). Легкие были вовлечены в процесс у всех умерших, кроме того,

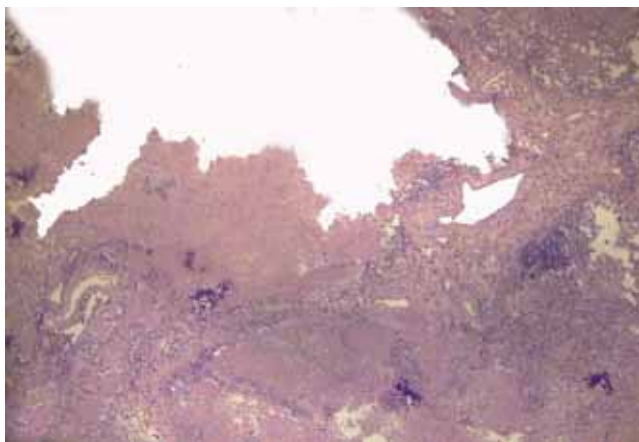


Рис. 2. Стенка полости распада при ПЦП (окраска гематоксилином и эозином; × 200)

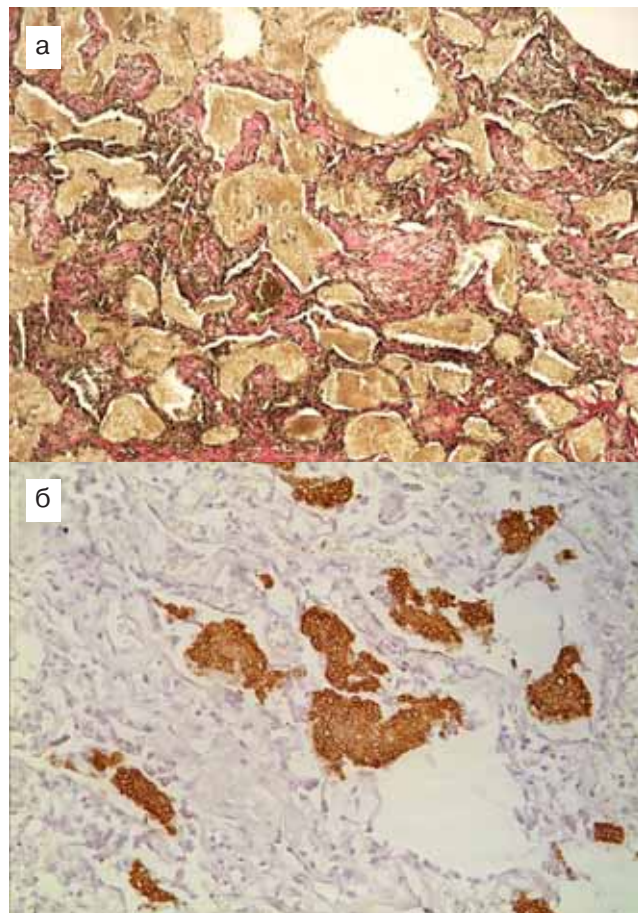


Рис. 3: а — обратное развитие ПЦП с формированием фиброзно-кистозных изменений в легком (окраска по ван Гизону; × 100); б — пневмоцисты в просвете альвеол на фоне фиброзных изменений в легком (иммуногистохимическая реакция с *Monoclonal Mouse Anti-Pneumocystis Jiroveci*, clone 3F6, DAKO; × 200)

у 1 человека выявлено поражение внутригрудных лимфатических узлов (ВГЛУ), надпочечников, паранефральной клетчатки; у 2-го — ВГЛУ, печени; у 3-го обнаружена диссеминация практически во всех органах (печень, почки, селезенка, надпочечники, внутригрудные лимфатические узлы, брыжейка кишечника). При обзорной микроскопии в различных органах выявлялись эозинофильные очажки преимущественно периваскулярной локализации с мелкими базофильными включениями пневмоцист. Периваскулярные округлые эозинофильные очажки пневмоцистного поражения в различных органах гистологически необходимо было дифференцировать с казеифицированными милиарными туберкулами. С этой целью выполнены гистобактериоскопия по Цилю–Нильсену и иммуногистохимическое исследование с моноклональными антителами *Myc. Tuberculosis mouse monoclonal antibody*, clone 1.1/3/1, Vector, которые дали отрицательный результат. При применении ШИК-реакции и иммуногистохимическом исследовании с антителом *Monoclonal Mouse Anti-Pneumocystis Jiroveci* пневмоцисты были выявлены.

Подтверждением гематогенной генерализации процесса, помимо выявления очагов пневмоцистоза в различных органах, явилось обнаружение пневмоцист в сосудистой стенке и идентификация их методом иммуногистохимии (рис. 4а, б, 5а–в). В нашем

исследовании факт обнаружения и молекулярной идентификации пневмоцист в сосудистой стенке был обнаружен лишь в 1 случае. В доступной нам литературе описания подобного поражения сосудистой стенки пневмоцистами мы не встретили.

В 7,7 % случаев (6 человек) ПЦП осложнилась развитием диффузного альвеолярного повреждения (ДАП), которое является морфологическим проявлением респираторного дистресс-синдрома взрослых, причем клинически он ни в одном случае не был диагностирован. В большинстве исследований отмечена острая (экссудативная) стадия ДАП, которая морфологически выражалась внутриальвеолярным отеком, кровоизлияниями, формированием в просвете альвеол пристеночно гиалиновых мембран, выраженным полнокровием интерстиция с лимфоидно-лейкоцитарной инфильтрацией, очаговой пролиферацией альвеолярного эпителия (рис. 6). В 2 случаях выявлена поздняя (пролиферативная) фаза ДАП; ее проявления (фиброз интерстиция, грануляционная ткань в просвете альвеол, плоскоклеточная метоплазия альвеолярного эпителия) нивелировались склеротическими изменениями при обратном развитии ПЦП и только обнаружение в отдельных альвеолах гиалиновых мембран дало возможность судить о наличии ДАП. Можно

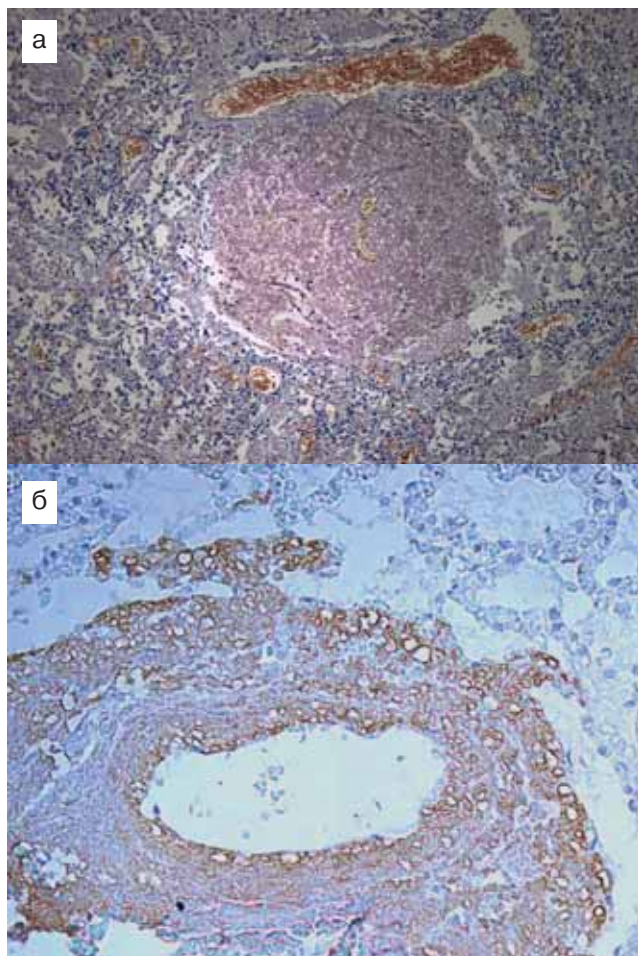


Рис. 4: а — периваскулярный очажок пневмоцистоза (окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$); б — скопления пневмоцистов в сосудистой стенке и периваскулярно (легкое) (иммуногистохимическая реакция с *Monoclonal Mouse Anti-Pneumocystis Jiroveci*, clone 3F6, DAKO; $\times 200$)

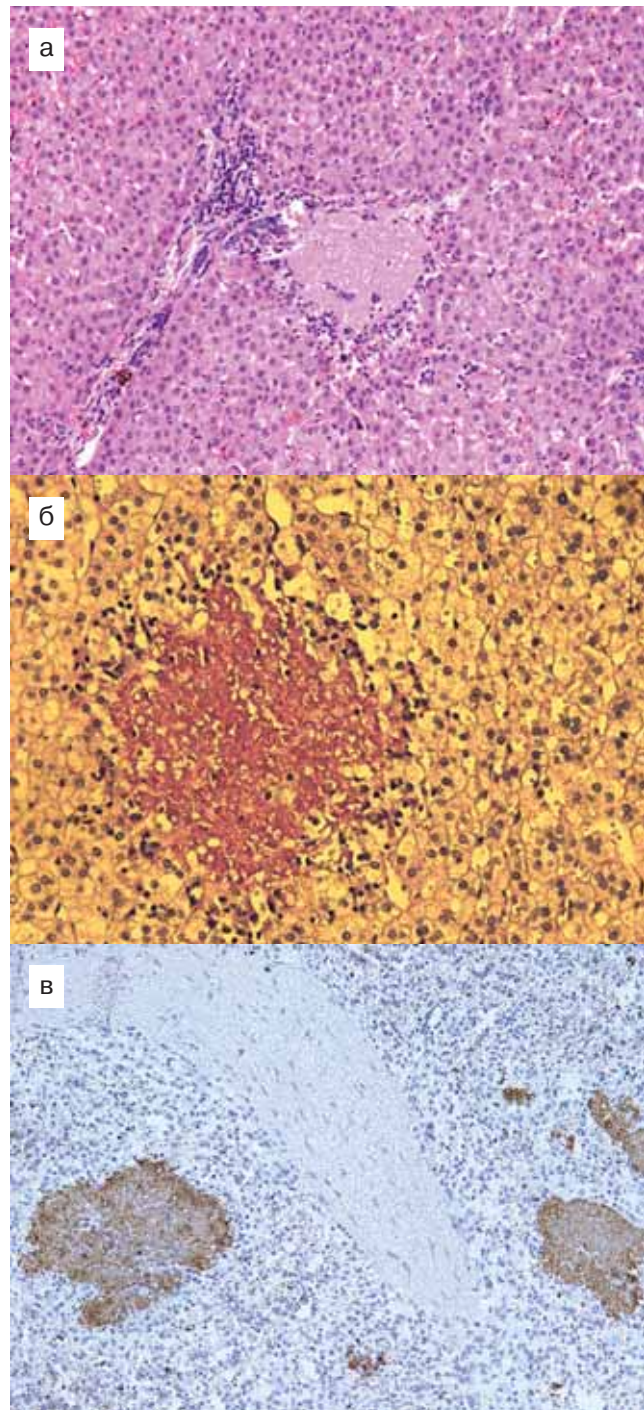


Рис. 5. Очажок пневмоцистоза: а — в печени (окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$); б — в надпочечнике (ШИК-реакция; $\times 200$), в — в селезенке (иммуногистохимическая реакция с *Monoclonal Mouse Anti-Pneumocystis Jiroveci*, clone 3F6, DAKO; $\times 200$)

предположить, что поздняя стадия ДАП в эмфизематозной стадии ПЦП встречается значительно чаще, но сходная микроскопическая картина инфекционного процесса и организующейся фазы ДАП затрудняют морфологическую диагностику последнего.

Наиболее сложными как для клинической, так и патологоанатомической диагностики являлись сочетанные инфекционные процессы в легких. Нами были диагностированы следующие сочетания: ПЦП + ЦМВ (26 / 65 %), ПЦП + ЦМВ + бактериальная пневмония (4 / 10 %), по 3 (7,5 %) случая — ПЦП + бактериальная пневмония и ПЦП + туберкулез, по

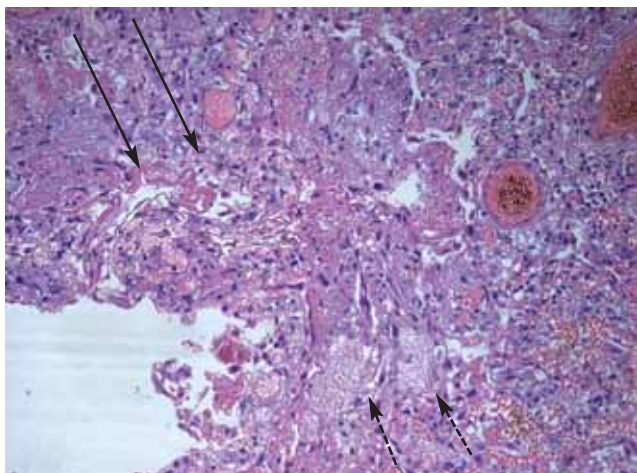


Рис. 6. Диффузное альвеолярное повреждение легкого при ПЦП (окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$)
Примечание: сплошными стрелками указана гиалиновая мембрана, прерывистыми — пневмоцисты в просвете альвеол.

1 (2,5 %) случаев составили комбинации ПЦП + ЦМВ + нетуберкулезный микобактериоз, ПЦП + пиемические очаги в легких при септикопиемии, обусловленной инфекционным эндокардитом, ПЦП + ЦМВ + туберкулез и ПЦП + бактериальная пневмония + токсоплазмоз легких.

Таким образом, спектр сочетанных поражений широк, отмечены ассоциации 2–3 инфекций, при-

чем этиологический фактор очень разнообразен — комбинации бактерий, вирусов, простейших. Патологические изменения при сочетанном поражении локализовались как в разных легких, так и в одном. При гистобактериоскопии определяли несколько возбудителей в одном поле зрения. Активность сочетанных инфекций могла иметь различный характер, с активным прогрессированием одного заболевания и подострым проявлением другого. Макро- и микроскопическая картина была стерта как вследствие сочетания морфологических легочных проявлений различных инфекций у одного больного, так и стертости типичной гистологической картины заболеваний в условиях тяжелейшего иммунодефицита. Необходимо одновременно морфологически дифференцировать множество признаков, типичных для совершенно разных заболеваний: некротические изменения, строение стенок полостей распада, перифокальные экссудативные реакции, явления организации при разрешении воспалительного процесса, и самое главное для диагностики инфекционного процесса — обнаружить и идентифицировать возбудителя. Если при остро протекающем воспалении цитологические и гистобактериоскопические методы исследования обычно позволяли обнаружить возбудителей инфекции, то при формирующихся фиброзных изменениях они были трудно определяемы. Верификацию этио-

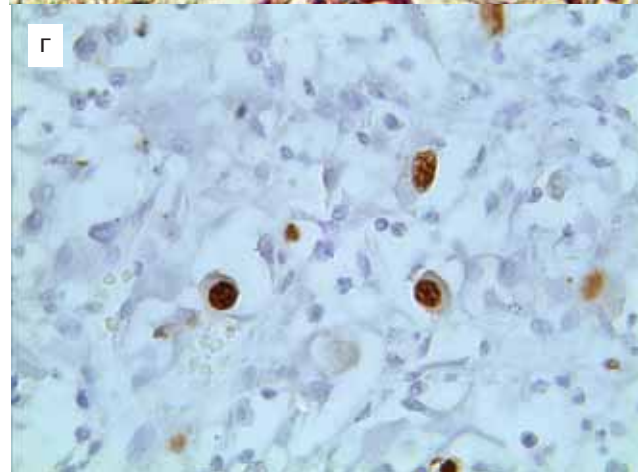
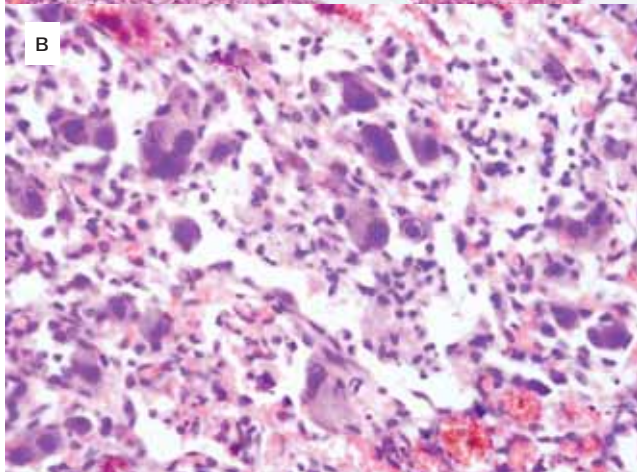
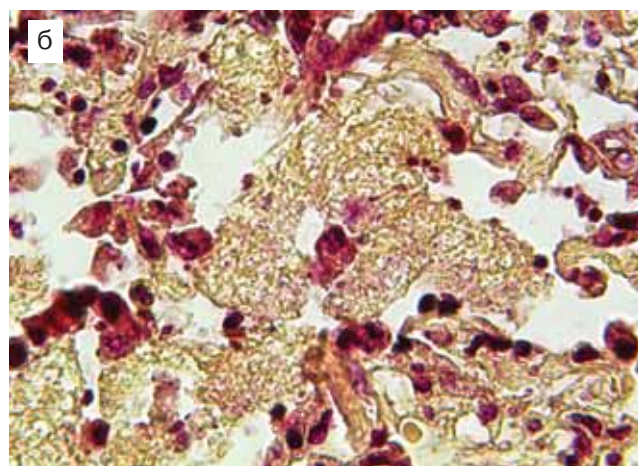
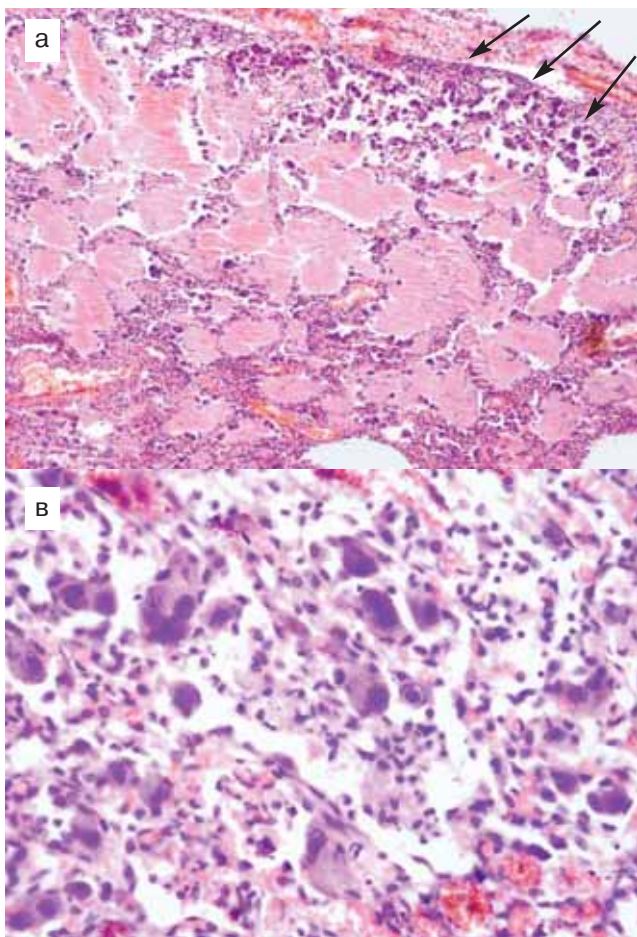


Рис. 7: а — сочетанное поражение легких — ПЦП и ЦМВИ (указана стрелками). (окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$); б — пневмоцисты в экссудате альвеол, отрицательная реакция на фибрин (окраска по Броун–Хоппсу; $\times 400$); в — клетки "совиного глаза" при ЦМВИ (окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$); г — ЦМВ-клетки в легком (иммуногистохимическая реакция с антителом *Mouse Anti-Cytomegalovirus, clone CCH2+DDG9, DAKO*; $\times 200$)

логического фактора проводили иммуногистохимическим методом с применением панели инфекционных антител (рис. 7а–г).

Заключение

ВИЧ-ассоциированная ПЦП составила 7,1 % от количества всех вскрытий умерших от ВИЧ-ассоциированных инфекций и заняла в структуре смертности 4-е место после туберкулеза, бактериальной пневмонии, инфекционного эндокардита. У больных ВИЧ-инфекцией стадийность ПЦП наблюдалась редко; на секционном материале превалировала отечная стадия (73,1 %). В 7,7 % была констатирована кавернозная форма ПЦП, развивающаяся обычно во 2-й ателектатической стадии и при рецидивирующем течении. Склеротические изменения при обратном развитии ПЦП давали морфологическую картину, сходную с карнификацией при организующейся бактериальной пневмонии, организацией перифокальных экссудативных явлений при заживающем туберкулезе, с интерстициальным фиброзом цитомегаловирусного происхождения. В 3,8 % аутопсий констатирован генерализованный пневмоцистоз с поражением различных органов. Вовлечение в процесс сосудистого русла с выявлением в стенках сосудов пневмоцист свидетельствует и о гематогенном пути генерализации. В 7,7 % течение ПЦП осложнилось развитием диффузного альвеолярного повреждения, что усугубляло дыхательную недостаточность. Определяли преимущественно острую фазу ДАП, хотя в эмфизематозной стадии ПЦП выявляли пролиферативную фазу альвеолярного повреждения. В 27,6 % случаях сочетанного инфекционного поражения легких у умерших от ВИЧ-инфекции в составе ассоциации обнаруживалась ПЦП. Случаи сочетанного поражения явились самыми сложными для морфологической диагностики вследствие различной активности одновременно протекающих процессов и стертой типичной микроскопической картины заболеваний в условиях глубокого иммунодефицита. Рутинные морфологические исследования, такие как цитологическое и обзорная микроскопия гистологических препаратов с использованием дополнительных окрасок для визуализации различных гистологических структур, далеко не всегда позволяют правильно расценить проявления ПЦП на разных стадиях ее развития и особенно при сочетанных поражениях. Особенно в последних случаях для верификации заболеваний и идентификации возбудителей необходим комплексный подход к патологоанатомическому изучению материала с применением всех доступных способов гистобактериоскопии и методов молекулярной диагностики (иммуногистохимия).

Литература

1. Михайлова Л.А., Шинкарева И.Г., Фролова О.П. Эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции и туберку-

- лезу. Проблемы туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией. Бюл. Центра противотуб. помощи больным ВИЧ-инфекцией Минздравсоцразвития России 2010; 9: 2–11.
2. Ермак Т.Н., Литвинова Н.Г., Самитова Э.Р. и др. Пневмоцистная пневмония в сочетании с туберкулезом как первые клинические проявления на поздних стадиях ВИЧ-инфекции (замечка из практики). Тер. арх. 2005; 11: 21–23.
3. Ерохин В.В., Романова Л.К. (ред.). Клеточная биология легких в норме и патологии. М.: Медицина; 2000.
4. Лепеха Л.Н., Бархина Т.Г., Пархоменко Ю.Г. Пневмоцистоз легкого в эксперименте и клинике. Арх. патол. 1998; 5: 46–52.
5. Гольдштейн В.Д. Пневмонии. М.: Бином; 2011.
6. Цинзерлинг А.В., Цинзерлинг В.А. Современные инфекции. Патологическая анатомия и вопросы патогенеза. СПб.: СОТИС; 2002.
7. Покровский В.В., Ермак Т.Н., Беляева В.В., Юрин О.Г. ВИЧ-инфекция: Клиника, диагностика и лечение. М.: Медицина; 2003.
8. Lubat E., Megilow A.J., Balthazar E. et al. Extrapulmonary pneumocystis carinii infection in AIDS: CT findings. Radiology 1990; 174: 157–160.
9. Ермак Т.Н., Кравченко А.В., Шахгильдян В.И. и др. Анализ причин летальных исходов больных ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации. Эпидемиол. и инфекц. бол. 2010; 3: 19–22.
10. Harries A.D., Maher D. TB / HIV: a clinical manual. Geneva: WHO; 2002.
11. Васильева Т.Е., Литвинова Н.Г., Шахгильдян В.И. и др. Легочная патология у больных ВИЧ-инфекцией. Тер. арх. 2007; 11: 31–35.
12. Пархоменко Ю.Г., Зюзя Ю.Р., Тишкевич О.А. Патология легких при ВИЧ-ассоциированных инфекциях. Арх. патол. 2008; 6: 44–48.
13. Цинзерлинг В.А. Важнейшие проблемы морфологической диагностики при ВИЧ-инфекции. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии 2009; 2: 31–37.
14. Пархоменко Ю.Г., Зюзя Ю.Р., Флигель Д.М. Дифференциальная диагностика деструктивных поражений легких при ВИЧ-ассоциированных инфекциях. Арх. патол. 2011; 5: 9–12.
15. Зюзя Ю.Р., Пархоменко Ю.Г., Зимица В.Н. и др. Сочетанные ВИЧ-ассоциированные инфекции легких – особенности морфологической верификации и дифференциальной диагностики. Клин. и экспер. морфол. 2012; 1: 21–26.

Информация об авторах

Зюзя Юлия Рашидовна – зав. патологоанатомическим отделением ГКУЗ Туберкулезная клиническая больница № 7 ДЗ г. Москвы; тел.: (499) 268-25-26; e-mail: zuzaju@mail.ru
 Пархоменко Юрий Георгиевич – д. м. н., проф., зав. лабораторией инфекционной патологии Учреждения РАМН "НИИ морфологии человека", зав. патологоанатомическим отделением ГКУЗ Инфекционная клиническая больница № 2 ДЗ; тел.: (495) 365-23-07, e-mail: morfolhum@mail.ru
 Зимица Вера Николаевна – к. м. н., старший научный сотрудник отдела фтизиатрии ФГБУ "ЦНИИ туберкулеза" РАМН; тел.: 8-919-721-45-99, e-mail: vera-zim@yandex.ru
 Тишкевич Олег Александрович – врач-патологоанатом ГКУЗ "Инфекционная клиническая больница № 2 ДЗ г. Москвы"; тел.: (495) 365-08-10

Поступила 04.10.12

© Коллектив авторов, 2012

УДК [616.24-002-022]-06:[616.98:578.828.6]