

УДК 616.98.-097-022:616-002.5-091

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО МАРКЕРА CD34 В МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОМ РУСЛЕ ЛЕГКИХ ПРИ КО-ИНФЕКЦИИ ВИЧ/ТУБЕРКУЛЁЗ

Быхалов Л.С.

*ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Волгоград, e-mail: leonby-vgd@yandex.ru;
ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», Волгоград*

Проведено иммуногистохимическое исследование с использованием маркера CD34+ аутопсийного материала легких умерших лиц с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом. Выявлена различная выраженность экспрессии CD34+ в стенках формирующихся каверн, что может свидетельствовать о степени васкуляризации в патологическом субстрате, морфогенезе каверны, а также служить морфологически-диагностическим признаком прогрессии туберкулеза при ВИЧ/ТБ ко-инфекции. Выявленная мозаичность или отсутствие окраски иммуногистохимическим маркером CD34+ эндотелиальных клеток сосудов микроциркуляторного русла легких может являться косвенным признаком повреждения эндотелия сосудов межальвеолярных перегородок при ВИЧ/ТБ ко-инфекции. Обнаруженные при проведении аутопсийного иммуногистохимического исследования легких особенности экспрессии биомаркера CD34 позволяют считать данный белок надежным маркером эндотелия сосудов микроциркуляторного русла, который даже при некротических изменениях при ко-инфекции ВИЧ/ТБ может длительно сохраняться в гибнущих клетках кровеносных сосудов.

Ключевые слова: ВИЧ, туберкулез, патоморфология легких, иммуногистохимия

PARTICULARITIES OF IMMUNOHISTOCHEMICAL BIOMARKER CD34 EXPRESSION IN THE MICROVASCULATURE OF LUNGS DURING CO-INFECTION HIV/TB

Bykhalov L.S.

*Volgograd State Medical University, Volgograd, e-mail: leonby-vgd@yandex.ru;
Volgograd medical research center, Volgograd, e-mail: leonby-vgd@yandex.ru*

Immunohistochemical study with using CD34 biomarker on autopsy material of lungs of persons with HIV infection and tuberculosis revealed different intensity of expression in walls of cavernae, which may indicate the degree of vascularization in the pathological substrate, morphogenesis of cavernae and will also be morphologically diagnostic feature of TB progression in HIV/TB co-infection. Revealed mosaicism or absence of immunohistochemical biomarker CD34+ staining in endothelial cells of blood vessels of the lung microvasculature may be an indirect sign of damage in vascular endothelium during HIV/TB co-infection. Discovered peculiarities of CD34 expression in lungs suggest this protein is a reliable biomarker for vascular endothelium of the microvasculature that even with a necrotic changes in co-infection HIV/TB can long be maintained in the dying cells of blood vessels.

Keywords: HIV, tuberculosis, lung patomorphology, immunohistochemistry

ВИЧ-инфекция остается глобальной проблемой человечества в XXI веке. Поражая дезадаптивные группы лиц, ВИЧ-инфекция по мере прогрессии приводит к развитию у них иммунодефицита, который проявляется вторичными инфекциями, в том числе до 80% туберкулезом, последний, в свою очередь, приводит к возрастанию риска распространения туберкулеза во всей популяции, независимо от наличия или отсутствия ВИЧ-инфекции [1, 2, 12, 13]. Отмечено, что в причинах смерти при ВИЧ/туберкулез (ВИЧ/ТБ) ко-инфекции преобладают генерализованные формы туберкулеза с множественными локализациями и гематогенной диссеминацией, которые нередко протекают с повреждением сосудов микроциркуляторного русла, что характерно для различных инфекционных процессов [3, 4, 6, 12].

Поражение эндотелия является важным звеном патогенеза различных инфекционных заболеваний [15]. Эндотелий служит барьером между кровью и тканями, участвует в процессах воспаления, проявляет антиагрегантные свойства, регулирует тонус сосудов, участвует в пролиферативных процессах гладкомышечных клеток [9]. С повреждением эндотелиальных клеток уменьшается их способность высвобождать NO, эндотелиальные релаксирующие факторы, тогда как образование вазоконстрикторных факторов, напротив, увеличивается, снижается барьерная функция эндотелия и повышается его проницаемость для провоспалительных цитокинов, снижается его противовирусная, противомикробная активность, в том числе против микобактерий туберкулеза (МБТ) за счет ингибирования воздействия на МБТ радикалов O₂ и оксида

азота. В микроциркуляторном русле легких происходит трансапиллярный переход белков плазмы в паренхиму органа с развитием иммунопатологических процессов в нем за счет персистенции иммунных комплексов и дисбаланса цитокинов с макрофагальной дисфункцией и нарушением межклеточных взаимоотношений [5, 10].

До настоящего времени отсутствует единая точка зрения о механизмах развития повреждений легких при ко-инфекции ВИЧ/ТБ с учетом роли эндотелия сосудов.

Цель исследования на аутопсийном материале умерших лиц выявить особенности экспрессии CD34+ в микроциркуляторном русле лёгких при туберкулёзе на фоне ВИЧ-инфекции.

Материалы и методы исследования

Исследовано 30 аутопсийных случаев умерших пациентов с ВИЧ/ТБ генерализованной ко-инфекцией. Образцы легких извлекались из трупов по общепринятым в патологической анатомии методикам в ранние сроки после смерти больного, фиксировались в 10% растворе забуференного формалина в течение суток при комнатной температуре, промывались и подвергались стандартной гистологической проводке. Из парафиновых блоков были изготовлены гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование с целью определения экспрессии к эндотелиальному маркеру CD34+ проводили с использованием мышиных моноклональных антител фирмы Spring Bioscience. Визуализацию проводили с помощью непрямого иммунопероксидазного метода с высокотемпературной демаскировкой антигенов с оценкой визуальной оптической плотности на микроскопе «Micros» (Austria) с применением описательного полуколичественного статистического метода, с целью архивации материала и дальнейшей обработки производили микрофотосъемку цифровой фотокамерой «Olympus» (Japan).

Результаты исследования и их обсуждение

При окраске гематоксилином и эозином в бронхах выявлялись очаги продуктивного воспаления в виде незрелых гранулем, расположенных перибронхиально, со слабовыраженными признаками казеозного некроза. Клеточный состав был представлен преимущественно гистиоцитами, лимфоцитами, фибробластами и плазматическими клетками. В ткани лёгких участки эмфиземы сменялись ателектазами. В альвеолах отмечалось присутствие слущенных эпителиальных клеток, макрофагов, незначительного серозного и в отдельных случаях геморрагического экссудата. Межалвеолярные перегородки были утолщены, в просветах альвеол наблюдались казеозные массы, а также тканевый детрит. Отмечались формирующиеся зоны продуктивного

воспаления, представленные очагами лимфогистиоцитарной инфильтрации в периваскулярных отделах. Отмечались очаги умеренно выраженного фиброза и продуктивного воспаления в субплевральных отделах со слабовыраженной гистиоцитарной инфильтрацией и участки формирующихся пневмониогенных каверн с различными по выраженности инфильтративными явлениями от умеренных до выраженных. Размеры каверн зависели от размера казеозного некроза и окружающего его инфильтративно-пневмонического фокуса.

В ряде случаев отмечались изменения в микроциркуляторном русле в виде неравномерного кровенаполнения, участков полнокровия, сменявшихся ишемией с явлениями эритростазов, тромбозов с развитием васкулитов. В одном случае наблюдали замещение сосудистых элементов соединительной тканью с преобразованием структуры альвеол, при котором эндотелий сосудов замещался соединительнотканью клетками, лимфоцитами, гистиоцитами, которые обнаруживались и в стенках, и в просветах альвеол, формируя инфильтрат.

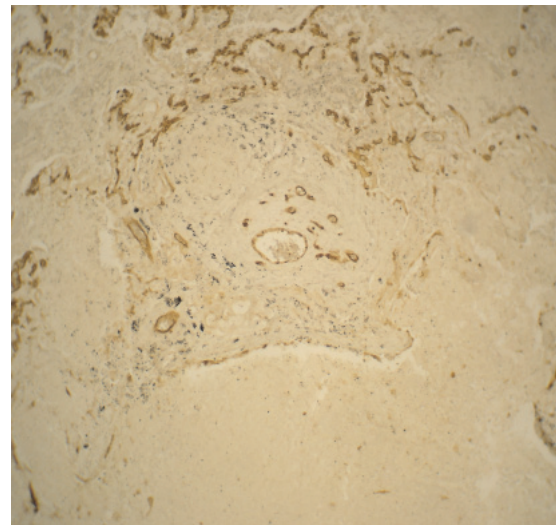


Рис. 1. Выраженная экспрессия иммунореактивного материала в эндотелии сосудов в стенке формирующейся каверны. ПАП-метод с антителами к CD34, докраска гематоксилином. Ув. X100

При иммуногистохимическом исследовании в нескольких случаях выраженная экспрессия CD34 (3 балла) наблюдалась в эндотелии сосудов в стенках формирующихся каверн (рис. 1, 2). С одной стороны, обнаруженная экспрессия CD34+ в стенке каверны может говорить о степени васкуляризации в патологическом субстрате, так как каверна может быть пронизана кровеносными и лимфатическими сосудами,

с другой стороны – о виде каверны: пневмониогенная каверна формируется при казеозном некрозе из гибнущих клеток гистиоцитарно-лимфоидного ряда и межальвеолярных перегородок [11].

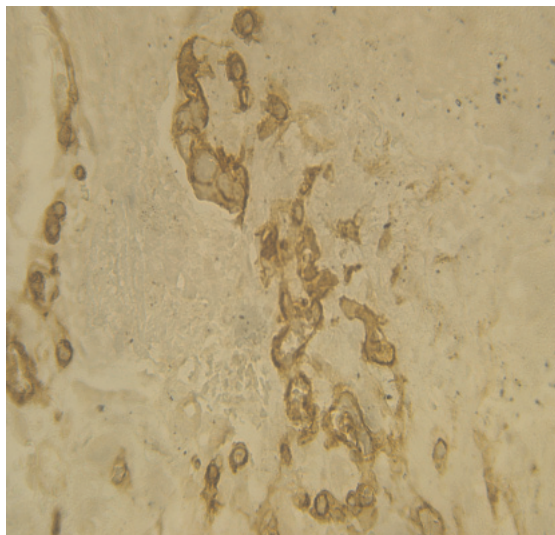


Рис. 2. Выраженная экспрессия иммунореактивного материала в эндотелии капилляров в стенке формирующейся каверны. ПАП-метод с антителами к CD34, докраска гематоксилином. Ув. X400

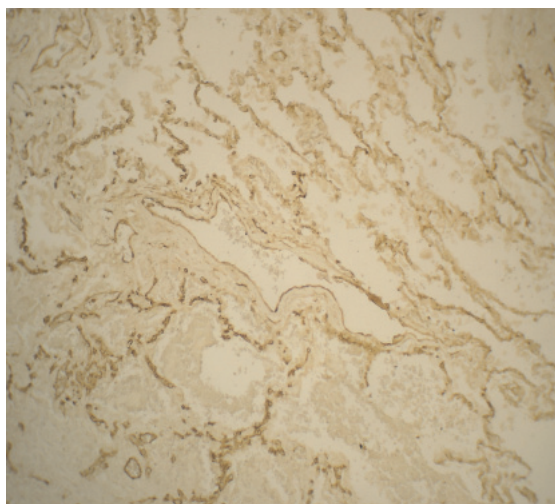


Рис. 3. В сосудах венозного русла отмечалось снижение экспрессии иммунореактивного материала в эндотелии, участки неравномерной экспрессии в сохранных эндотелиоцитах. ПАП-метод с антителами к CD34, докраска гематоксилином. Ув. X100

Усиленная экспрессия биомаркера CD34 в инфильтративно-пневмоническом фокусе может служить признаком выраженных репаративных процессов с интенсивной пролиферацией эндотелиоцитов, которые несут на себе маркер зрелых CD34-позитивных

клеток и участвуют в реваскуляризации [14]. В свою очередь, образованная при казеозном некрозе тонкостенная полость распада легочной ткани на фоне гиперваскуляризации может служить источником гематогенной диссеминации микобактерий туберкулёза в другие органы, а прорыв в бронх приведет к бронхогенному распространению на соседние участки легких с прогрессией заболевания [8].

В альвеолах, не затронутых специфическим воспалительным процессом, отмечалась умеренно выраженная экспрессия CD34 (2 балла). В периферических участках казеозного некроза также отмечалась умеренно выраженная очаговая цитоплазматическая экспрессия CD34 (2 балла) в погибающих эндотелиоцитах стенок поврежденных альвеол. Эндотелиальные клетки выглядели в виде островков, отделенных друг от друга некротизированными эпителиодными и соединительнотканными клетками. В периферических отделах гранулём, в зонах инфильтрации легочной ткани и в участках воспаления со зрелыми гранулёмами, расположенными субплеврально, обнаруживались сосуды с умеренно выраженной экспрессией CD34 (2 балла), такая же по выраженности реакция выявлялась в стенке капилляров. В сосудах венозного русла отмечалась преимущественно слабая экспрессия иммунореактивного материала в сохранных эндотелиоцитах, отмечалось снижение экспрессии CD34 (1–2 балла) в эндотелии, участки неравномерной экспрессии в сохранных эндотелиоцитах (рис. 3). В части сосудов микроциркуляторного русла с полным отсутствием эндотелиальной выстилки отмечалось отсутствие иммуногистохимической реакции (0 баллов). Выше представленные изменения свидетельствуют о гетерогенности изменений иммунофенотипа эндотелия кровеносных сосудов легких при ко-инфекции ВИЧ/ТБ, повреждении сосудов кровеносного русла, а следовательно, нарушении трофики различных участков легких, развитии гипоксии, что в свою очередь может способствовать формированию более выраженной деструкции ткани, нарушению фармакокинетики лекарственных средств [7] с дальнейшим нарастанием местного иммунодефицита и прогрессированием ко-инфекции ВИЧ/ТБ.

Заключение

Таким образом, структурные изменения эндотелия играют значимую роль в патоморфогенезе ко-инфекции ВИЧ/ТБ. При исследовании аутопсийного материала легких лиц с ВИЧ-инфекцией и туберкулёзом, выявлена различная выраженность экспрес-

сии биомаркера CD34, которая носила резко выраженный (++++) характер в стенках формирующихся каверн, что может говорить о степени васкуляризации в патологическом субстрате, морфогенезе каверны, а также служить морфологически-диагностическим признаком прогрессии туберкулеза при ВИЧ-инфекции. Выявленная мозаичность распределения иммунореактивного материала или его отсутствие при иммуногистохимическом изучении биомаркера CD34 в очагах продуктивного воспаления (преимущественно в виде незрелых эпителиоидно-клеточных гранул) свидетельствует о гетерогенности изменений иммунофенотипа эндотелия кровеносных сосудов легких при ВИЧ/ТБ ко-инфекции.

Список литературы

1. Быхалов Л.С., Седова Н.Н., Деларю В.В. [и др.] Причины смерти и патоморфологическая характеристика органов при туберкулезе, ассоциированном с ВИЧ-инфекцией // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2013. – № 3. – С. 64–68.
2. Быхалов Л.С., Деларю В.В., Быхалова Ю.А., Ибраимова Д.И. Эпидемиологические, медико-социальные и психологические аспекты ко-инфекции ВИЧ/туберкулез в Волгоградской области по материалам социологического исследования // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5; URL: www.science-education.ru/119-14956 (дата обращения: 20.11.2014).
3. Быхалов Л.С., Смирнов А.В. Патоморфологические изменения в легких при туберкулезе на разных стадиях ВИЧ-инфекции // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2014. – № 2. – С. 27–30.
4. Быхалов Л.С., Смирнов А.В. Клинико-морфологическая характеристика, медико-социальные параметры лиц с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2014. – № 2. – С. 28–30.
5. Ерохин В.В. Молекулярные, субклеточные и клеточные механизмы патогенеза туберкулезного воспаления легких // Саратовский научно-медицинский журнал – 2009. – Т. 5. – № 2. – С. 267–269.
6. Зюзя Ю.Р., Пархоменко Ю.Г., Зимина В.Н. [и др.] Сочетанные ВИЧ-ассоциированные инфекции легких – особенности морфологической верификации и дифференциальной диагностики // Клиническая и экспериментальная морфология – 2012. – Т. 1. – № 1. – С. 21–25.
7. Кошечкин В.А., Иванова З.А. Туберкулез. – М., 2007 – С. 35.
8. Мишин В.Ю., Григорьев Ю.Г., Митронин А.В. [и др.] Фтизиопульмонология: учебник. – М., 2007 – С. 52.
9. Повешенко О.В., Повешенко А.Ф., Коненков В.И. Эндотелиальные прогениторные клетки и неоваскулогенез // Успехи современной биологии. – 2012 – № 1. – С. 69–76.
10. Сотниченко С.А., Маркелова Е.В., Сафронов А.Е. Особенности цитокиновой регуляции при ВИЧ-ассоциированном туберкулезе // Российский иммунологический журнал. – 2008. – № 4 – Т. 2. – С. 185.
11. Хоменко А.Г. Туберкулез. Руководство для врачей. – М., 1996 – С. 25.
12. Цинзерлинг В.А. ВИЧ-инфекция и туберкулез. Проблемы клинико-морфологических сопоставлений. Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13. – № 4. – С. 87–91.
13. Цинзерлинг В.А., Чухловина М.Л. Инфекционные поражения нервной системы: вопросы этиологии, патогенеза и диагностики. Руководство для врачей. – СПб., 2011. – 584 с.
14. Shi Q., Rafi i S., Wu M.H., Wijelath E.S., Yu C., Ishida A., Fujita Y., Kothari S., Mohle R., Sauvage L.R., Moore M.A., Storb R.F., Hammond W.P. // Blood. – 1998. – Vol. 92. – № 2. – P. 362.
15. Smirnov A.V., Pisarev V.B., Bykhalov L.S Morphological alteration in the Lung during West Nile virus infection // European journal of Natural History – 2007. – № 2 – P. 64–65.

References

1. Bykhalov L.S., Sedova N.N., Delarju V.V. [i dr.] Prichiny smerti i patomorfologicheskaja harakteristika organov pri tuberkuljoze, associirovannom s VICH-infekciej // Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. 2013. no. 3. pp. 64–68.
2. Bykhalov L.S., Delarju V.V., Bykhalova Ju.A., Ibraimova D.I. Jepidemiologicheskie, mediko-social'nye i psihologicheskie aspekty ko-infekcii VICH/tuberkuljoz v Volgogradskoj oblasti po materialam sociologicheskogo issledovanija // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2014. no. 5; URL: www.science-education.ru/119-14956 (accessed 20.11.2014).
3. Bykhalov L.S., Smirnov A.V. Patomorfologicheskie izmenenija v legkih pri tuberkuljoze na raznyh stadijah VICH-infekcii // Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. 2014. no. 2. pp. 27–30.
4. Bykhalov L.S., Smirnov A.V. Kliniko-morfologicheskaja harakteristika, mediko-social'nye parametry lic s VICH-infekciej i tuberkuljozom // Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2014. no. 2. pp. 28–30.
5. Erokhin V.V. Molekuljarnye, subkletochnye i kletochnye mehanizmy patogeneza tuberkuljoznogo vospaleniya legkih // Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal 2009. T. 5. no. 2. pp. 267–269.
6. Zjuzja Ju.R., Parhomenko Ju.G., Zimina V.N. [i dr.] Sochetannye VICH-associirovannye infekcii legkih osobennosti morfologicheskoy verifikacii i differencial'noj diagnostiki // Klinicheskaja i jeksperimental'naja morfologija 2012. T. 1. no. 1. pp. 21–25.
7. Koshechkin V.A., Ivanova Z.A. Tuberkuljoz. Moskva 2007 pp. 35.
8. Mishin V.Ju., Grigor'ev Ju.G., Mitronin A.V. [i dr.] Ftiziopul'monologija. Uchebnik. Moskva 2007 pp. 52.
9. Poveshhenko O.V., Poveshhenko A.F., Konenkov V.I. Jendotelial'nye progenitornye kletki i neovaskulogenez // Uspehi sovremennoj biologii 2012 no. 1. pp. 69–76.
10. Sotnichenko S.A., Markelova E.V., Safronov A.E. Osobennosti citokinovoj reguljacii pri VICH-associirovannom tuberkuleze // Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2008. no. 4. T. 2. pp. 185.
11. Homenko A.G. Tuberkulez. Rukovodstvo dlja vrachej. Moskva 1996 pp. 25.
12. Cinzerling V.A. VICH-infekcija i tuberkuljoz. Problemny kliniko-morfologicheskikh сопоставлений. Medicinskij akademicheskij zhurnal. 2013. T. 13. no. 4. pp. 87–91.
13. Cinzerling V.A., Chuhlovina M.L. Infekcionnye porazhenija nervnoj sistemy: voprosy jetiologii, patogeneza i diagnostiki. Rukovodstvo dlja vrachej. SPb.: 2011. 584 p.
14. Shi Q., Rafi i S., Wu M.H., Wijelath E.S., Yu C., Ishida A., Fujita Y., Kothari S., Mohle R., Sauvage L.R., Moore M.A., Storb R.F., Hammond W.P. // Blood. 1998. no. 2. pp. 362.
15. Smirnov A.V., Pisarev V.B., Bykhalov L.S Morphological alteration in The Lung during West Nile virus infection // European journal of Natural History 2007. no. 2 pp. 64–65.

Рецензенты:

Краюшкин А.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анатомии человека Волгоградского государственного медицинского университета, г. Волгоград;
Григорьева Н.В., д.м.н., профессор, кафедры патологической анатомии Волгоградского государственного медицинского университета, г. Волгоград.
Работа поступила в редакцию 05.12.2014.