

**УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ ЛЕГКИХ
ПРИ СПЕЦИФИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ У ПОТРЕБИТЕЛЕЙ
ИНЪЕКЦИОННЫХ НАРКОТИКОВ, УМЕРШИХ
ОТ КО-ИНФЕКЦИИ ВИЧ/ТУБЕРКУЛЕЗ****Л. С. Быхалов, А. В. Смирнов, М. В. Шмидт***Волгоградский государственный медицинский университет,
Волгоградский научный медицинский центр*

В проведенном исследовании обнаруживаются ультраструктурные изменения в легких у ВИЧ-инфицированных лиц с прижизненным инъекционным употреблением наркотиков. При сочетании ВИЧ/ТБ ко-инфекции с инъекционной наркотической зависимостью было выявлено повреждение альвеолоцитов 1-го типа и эндотелиоцитов капилляров межальвеолярных перегородок, установлена функциональная лабильность макрофагов к микобактериям туберкулеза (МБТ) в результате преобладания незрелых клеток с уменьшением секреторной способности и появлением промежуточных форм, а также отличия в регуляции процессов клеточной гибели в различных популяциях иммунокомпетентных клеток под влиянием МБТ и ВИЧ.

Ключевые слова: патоморфология легких, ВИЧ-инфекция, туберкулез, ультраструктура легких, потребители инъекционных наркотиков.

**ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN LUNG TISSUE IN SPECIFIC INFLAMMATION
IN INJECTING DRUG USERS, WHO DIED FROM HIV/TB CO-INFECTION****L. S. Byhalov, A. V. Smirnov, M. V. Schmidt***Volgograd State Medical University,
Volgograd Research Medical Center*

The study found the features of ultrastructural changes in the lungs of HIV-positive people with lifetime injection drug use. The combination of HIV/TB co-infection with injecting drug addiction resulted in the damage of alveolocytocytes 1-type and endothelial cells of capillaries of interalveolar septae. We also revealed the functional lability of macrophages to Mycobacterium tuberculosis (MBT) due to a preponderance of immature cells with decreased secretory ability and the emergence of intermediate forms, as well as differences in the regulation of processes of cell death in different populations of immunocompetent cells under the influence of MBT and HIV.

Key words: pathomorphology of lungs, HIV infection, tuberculosis, lung ultrastructure, injecting drug users.

Несмотря на улучшение эпидемической обстановки по туберкулезу (ТБ), он представляет собой серьезную проблему для здравоохранения в России и во всем мире [1], поскольку в последнее время отмечается рост заболеваемости ТБ среди ВИЧ-инфицированных [9]. Ко-инфекция ВИЧ/туберкулез (ВИЧ/ТБ) поражает дезадаптивные слои населения [8], в 70 % случаев поражаются потребители инъекционных наркотиков (ПИН) [2]. До настоящего времени остаются не решенными вопросы клинко-морфологической диагностики [6], а также патогенеза двойной инфекции ВИЧ/ТБ [10] с учетом прижизненных девиаций больных. Особый интерес представляют ультраструктурные изменения в очагах туберкулезного воспаления при ко-инфекции ВИЧ/ТБ [4].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявить ультраструктурные изменения в легких при ВИЧ/ТБ ко-инфекции у умерших лиц с прижизненным употреблением инъекционных наркотиков.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследован аутопсийный материал умерших пациентов с ВИЧ/ТБ ко-инфекцией ($n = 47$). Критерием

включения в исследование был диагноз психиатра-нарколога, указанный в медицинской документации умершего больного с ВИЧ/ТБ ко-инфекцией: психические и поведенческие расстройства, вызванные употреблением опиоидов (инъекционная героиновая наркотическая зависимость, героиновая инъекционная наркомания).

Для электронно-микроскопического исследования фиксацию кусочков легких размером до 1 мм³ производили в течение 12 часов в 4%-м растворе параформина 0,1 М какодилатном буфере с последующей постфиксацией в течение 3 часов в 1%-м растворе тетраокиси осмия на 0,1 М какодилатном буфере (pH = 7,4) при температуре +4 °С. После промывки в нескольких порциях раствора какодилатного буфера материал подвергали дегидратации в спиртах и ацетонах возрастающей концентрации и заливали в смесь эпон-а и аралдита.

Ультратонкие срезы толщиной 50—90 нм получали на ультрамикротоме LKB-8800. Полутонкие эпон-аралдитовые срезы толщиной 1 мкм окрашивали метиленовой синью. Ультратонкие срезы монтировали на медные сетки. После контрастирования в 0,3%-м растворе цитрата свинца в течение 20 минут срезы изучались в электронных микроскопе Tesla BS-500 при ускоряющем

напряжении 60 кВ. Фотодокументирование производили с использованием фотопленок «ФТ-40». Электронные микрофотограммы изготавливали на фотографической контрастной черно-белой бумаге «Унибром 160 БП» и «Kodak».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В очагах гранулематозного воспаления в легких при ко-инфекции ВИЧ/ТБ обнаруживаются единичные эпителиоидные клетки, в ядрах которых преобладает центрально расположенный эухроматин, гетерохроматин распределен в периферической части, конденсирован на внутренней мембране нуклеолеммы. Ядрышко часто отсутствует, что, возможно, свидетельствует о снижении белоксинтетической функции клеток. В цитоплазме обнаруживаются полирибосомы, митохондрии с признаками отека крист.

В большинстве случаев в очаге воспаления обнаруживаются «молодые» неактивированные макрофаги с отсутствием или единичными лизосомами, с уплотненными цистернами эндоплазматического ретикулума, нередко отмечается отсутствие комплекса Гольджи. Встречаются единичные зрелые фагоцитирующие макрофаги диаметром 33—38 мкм неправильной округлой формы с овальными ядрами, в которых имеется гетерохроматин, прикрепленный к внутренней мембране, а также в виде островков, располагающихся в центральной части ядра. Отмечаются значительные ультраструктурные изменения в ядрах: уменьшение количества эухроматина, перераспределение эу- и гетерохроматином. Ядрышко отсутствует в большинстве случаев. В цитоплазме в значительном количестве содержатся МБТ, окруженные материалом низкой электронной плотности в виде ободка, лизосомы диаметром 1—2 мкм, которые располагаются повсеместно (рис. 1).

Кроме того, встречаются фагосомы и фаголизосомы с включениями материала различной электронной плотности (МБТ). Отмечено появление клеток гистиоцитарного ряда, имеющих переходные ультраструктурные характеристики между секреторными и эпителиоидными клетками (малые эпителиоидные клетки при ВИЧ/ТБ ко-инфекции), свидетельствует о нарушении процессов дифференцировки и функционирования эпителиоидных клеток.

Отмечается нарушение целостности гематоальвеолярного барьера. В периваскулярных пространствах и в макрофагах обнаруживаются скопления гранулярного электроплотного материала, возможно, вирусные частицы [4], микобактерии туберкулеза.

Имеются фибробластоподобные клетки с овальными ядрами с центрально расположенным ядрышком и хорошо выраженным аморфным компонентом. В ядре наблюдается значительное количество гетерохроматина в периферической части, эухроматина — в центральной части. В цитоплазме наблюдаются скопления гранулярного электроплотного материала, возможно, вирусные частицы [4], митохондрии с признаками раз-

рушения крист и отека (рис. 2). Кроме того, отмечаются поля тканевого детрита, в котором наблюдаются скопления осmioфильного миелиноподобного материала размерами от 0,5 до 2 мкм с фрагментами разрушенных клеток, а также везикулярные деструктивно измененные микобактерии туберкулеза и их фрагменты.

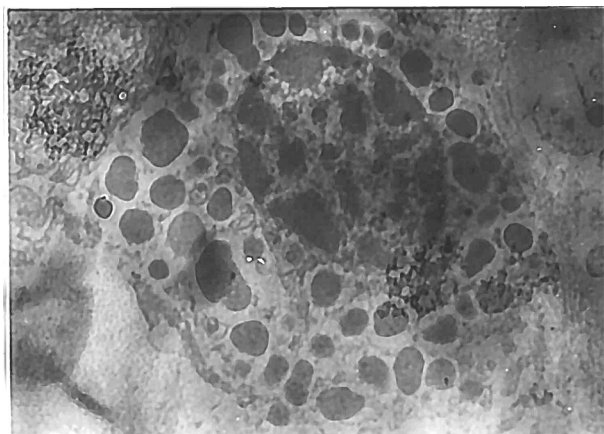


Рис. 1. Генерализованный туберкулез: милиарная диссеминация в легких, МБТ(+), ВИЧ-инфекция, стадия 4В, группа 2, подгруппа 3. Умерший М., 38 лет. Макрофаг в очаге гранулематозного воспаления в легком. В цитоплазме в значительном количестве содержатся МБТ, окруженные материалом низкой электронной плотности, лизосомы, располагающиеся в центральных и периферическом компартментах клетки. Фагосомы, содержащие микобактерии туберкулеза с деструктивными изменениями. Трансмиссионная электронная микроскопия. Ув. × 10000



Рис. 2. Генерализованный туберкулез: милиарная диссеминация в легких, МБТ(+), ВИЧ-инфекция, стадия 4В, группа 2, подгруппа 3. Умерший М., 38 лет. В цитоплазме гранулы электроплотного материала, митохондрии с признаками разрушения крист и отека. Трансмиссионная электронная микроскопия. Ув. × 10000

В очагах гранулематозного воспаления в альвеолах отмечаются деструктивные изменения респираторных эпителиоцитов 1 типа в виде набухания отдельных

митохондрий с очаговым лизисом крист, с увеличением количества пиноцитозных пузырьков. Отмечается цитоплазматический отек клеток, как в зонах воспалительного инфильтрата, так и на периферии, а также расширение межклеточных контактов. Кроме того, на люминальной поверхности отмечается увеличение количества псевдоподий. Встречаются резко расширенные цистерны эндоплазматической сети с накоплением материала умеренной электронной плотности. Ядра имеют округлую овальную удлинненную форму с преобладанием эухроматина с локализацией гетерохроматина на поверхности внутренней ядерной мембраны.

Отмечается разрыхление и утолщение базальной мембраны и появление в этих участках фибробластов, а также выраженный отек межалъвеолярных перегородок.

При исследовании сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) наиболее выраженные изменения отмечаются в эндотелии капилляров, как очагах гранулематозного воспаления, так и в окружающих сосудах обнаруживаются дистрофические изменения в цитоплазме эндотелиоцитов в виде отека, увеличения количества пиноцитозных везикул, деструкция части оргanelл. Цитоплазма утолщена, отмечаются складки и выпячивания люминальной поверхности в просвет сосуда. В митохондриях отмечается отек, очаговый лизис крист. В структуре ядра преобладает гетерохроматин, который располагается по периферии. Ядрышко, как правило, не визуализируется. Отмечаются участки разрыва межклеточных контактов и появление пространств, заполненных материалом средней электронной плотности в виде карманов, ограниченных боковыми поверхностями эндотелиоцитов и базальной мембраной, а также гранулярный материал высокой электронной плотности, что нередко обнаруживается при вирусном повреждении [5]. Базальная мембрана разрыхлена, имеет очаги разволокнения.

В периваскулярных отделах и областях гранулематозного воспаления встречаются плазматические клетки с эксцентрически расположенным ядром, округлой формы. Гетерохроматин располагается по периферии с единичными островками. В центре преобладает эухроматин. Ядрышко выражено хорошо с сохраненной оболочкой. В нуклеоплазме отмечаются признаки отека. Цитоплазма занимает значительную часть клетки, в ней находятся многочисленные канальцы и расширенные цистерны гранулярной эндоплазматической сети. В центральной части клетки имеются мембраны комплекса Гольджи. Отмечаются расширенные участки гранулярного эндоплазматического ретикулула, неравномерность распределения сети в цитоплазме в периферическом компартменте клеток. В центральной части обнаруживается наличие канальцев гранулярной эндоплазматической сети, свободных полирибосом, признаки отека. В целом ультраструктура плазмоцитов оставалась достаточно сохранной.

Наблюдалось наличие апоптозных телец, представленных фрагментами клеток, содержащих сохран-

ные митохондрии и участки эндоплазматической сети. В ядрах обнаруживалась краевая конденсация хроматина. Отмечались ультраструктурные признаки как завершенного, так и незавершенного апоптоза.

Считается, что при моно-инфекции туберкулез микобактерии вмешиваются в процессы регуляции клеточной гибели, влияя на сохранность митохондрий макрофагов и препятствуя инициализации апоптоза [7]. Появление при ко-инфекции ВИЧ/ТБ в цитоплазме макрофагов вокруг митохондрий «ободков», представленных материалом низкой электронной плотности, рассматривается нами как обнаруживаемое при малых увеличениях электронного микроскопа значительное скопление микобактерий вокруг митохондрий. Количество и сохранность ультраструктуры последних заставляет предположить, что в случае ко-инфекции ВИЧ/ТБ интрацеллюлярные *Mycobacteria tuberculosis*, оказывая цитопротективные эффекты посредством контроля митохондриальных механизмов регуляции апоптоза. Вторичное иммунодефицитное состояние (ВИДС), возникающее при туберкулезе, так же как и при ВИЧ-инфекции, зависит от количественных и функциональных сдвигов CD4⁺ лимфоцитов, а именно Th-1 типа, которые регулируют активацию макрофагов, а при воздействии наркотических средств на макроорганизм вызывают иммунные нарушения с инверсией иммуnoreгуляторного индекса CD4/CD8[3], что усугубляет иммунодефицит.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами выявлены ультраструктурные особенности продуктивного воспаления при ко-инфекции ВИЧ/туберкулез с прижизненным употреблением инъекционных наркотиков, сопровождающиеся повреждением гематоальвеолярного барьера, в частности, альвеолоцитов 1-го типа, эндотелиоцитов капилляров и их базальной мембраны. В очагах гранулематозного воспаления, так и в окружающих межалъвеолярных перегородках определены выраженные ультраструктурные признаки повреждения макрофагов, способствующие изменению их лабильности, фагоцитарной активности по отношению и к МБТ в результате преобладания незрелых клеток, по-видимому, с уменьшением секреторной способности и появлением промежуточных форм, «малые эпителиоидные клетки при ВИЧ/ТБ ко-инфекции». Кроме того, обнаруженные макрофаги со скоплением гранулярного электроноплотного материала, возможно, вирусных частиц [4] в цитоплазме, с поврежденными и сохранными митохондриями, наличие деструктивных изменений, свидетельствуют о существенных отличиях в регуляции процессов клеточной гибели в различных популяциях иммунокомпетентных клеток и о роли возникновения иммунодефицита с дисфункцией CD4⁺лимфоцитов под влиянием ВИЧ, а также об угнетении других механизмов контроля иммунокомпетентных клеток под влиянием МБТ и опиоидов [2, 3, 6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Барканова О. Н., Газарина С. Г., Калуженина А. А., Полкова Н. Л. Туберкулез легких в Волгоградской области в 1997—2014 гг // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2016. — № 2. — С. 78—80.
2. 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.
3. Зайратьянс О. В., Гасанов А. Б. Морфология иммунной системы при опиатной, канабиоидной и полинаркомании // Архив патологии. — 2009. — № 5. — С. 35—40.
4. Зюзя Ю. Р., Бархина Т. Г., Пархоменко Ю. Г., Черников В. П. Гистологические и ультраструктурные изменения в легких при ВИЧ-инфекции в сочетании с туберкулезом // Архив патологии. — 2015. — Т. 77, № 1. — С. 23—29.
5. Смирнов А. В., Шмидт М. В., Быхалов Л. С., Бутенко А. М. и [др.]. Морфологические признаки повреждения легких мышей на 14-е сутки экспериментального воспроизведения лихорадки Западного Нила // Волгоградский научно-медицинский журнал. — 2010. — № 4. — С. 14—16.
6. Baghaei P., Esmaeili S., Farshidpour M., Javanmard P., Marjani M., Moniri A., Nemati K., Tabarsi P. Diagnosing active and latent tuberculosis among Iranian HIV-infected patients // Clin Respir J. — 2016. Apr 5. doi: 10.1111/crj.12479
7. Jamwal S., Midha M. K., Verma H. N., Basu A., Rao K. V. S., Manivel V. Characterizing virulence-specific perturbations in the mitochondrial function of macrophages infected with mycobacterium tuberculosis // Sci. Rep. — 2013. — № 3. — P. 1328; DOI:10.1038/srep01328.
8. Mitku A. A., Dessie Z. G., Muluneh E. K., Workie D. L. Prevalence and associated factors of TB/HIV co-infection among HIV Infected patients in Amhara region, Ethiopia // Afr Health Sci. — 2016. — Jun; Vol. 16 (2). — P. 588—595.
9. Rieder H. L. The dynamics of tuberculosis epidemiology // Indian J Tuberc. — 2014. — Jan; Vol. 61(1). — P. 19—29.
10. Foreman T. W., Mehra S., LoBato D. N., Malek A., Alvarez X., Golden N. A., Bucsan A. N., Didier P. J., Doyle-Meyers L. A., Russell-Lodrigue K. E., Roy C. J., Blanchard J., Kuroda M. J., Lackner A. A., Chan J., Khader S. A., Jacobs W. R. Jr., Kaushal D. CD4+ T-cell-independent mechanisms suppress reactivation of latent tuberculosis in a macaque model of HIV coinfection // Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Sep 6. pii: 201611987.

Контактная информация

Быхалов Леонид Сергеевич — к. м. н., ассистент кафедры патологической анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: leonby-vgd@yandex.ru