

**ОПИСАНИЕ
ИЗОБРЕТЕНИЯ
К ПАТЕНТУ**
(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **23183**

(13) **С1**

(46) **2020.10.30**

(51) МПК

G 01N 1/30 (2006.01)

G 01N 33/48 (2006.01)

(54) **СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ СТАДИЙ ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ
ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ЛИМФАДЕНОПАТИИ У ПАЦИЕНТА
С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ**

(21) Номер заявки: а 20180309

(22) 2018.06.29

(43) 2020.02.28

(71) Заявители: Тищенко Григорий Витальевич; Цыркунов Владимир Максимович (ВУ)

(72) Авторы: Тищенко Григорий Витальевич; Цыркунов Владимир Максимович (ВУ)

(73) Патентообладатели: Тищенко Григорий Витальевич; Цыркунов Владимир Максимович (ВУ)

(56) OLTEANU H. et al. Lymph Nodes. New York: Demos Medical, 2013. - P. 8-9.

WRIGHT D.H. et al. Diagnostic Lymph Node Pathology. London: Hodder Arnold, 2006. - P. 17-26.

KRADIN R.L. Diagnostic Pathology of Infectious Disease. - Philadelphia: Saunders Elsevier, 2010. - P. 297-305.

(57)

Способ диагностики стадий персистирующей генерализованной лимфаденопатии у пациента с ВИЧ-инфекцией, включающий морфологическое исследование лимфатического узла, **отличающийся** тем, что проводят гистохимическую обработку серийных срезов лимфатического узла путем последовательного окрашивания каждого из срезов гематоксилином и эозином, ШИК и пикрофуксином по Ван-Гизону, после чего осуществляют микроскопическое исследование окрашенных срезов и при выявлении наличия гиперплазии лимфоидных фолликулов с широким герминативным центром и четко дифференцированной мантийной зоной, а также наличия моноцитарной В-клеточной гиперплазии диагностируют I стадию персистирующей генерализованной лимфаденопатии (ПГЛ), при выявлении наличия фолликулярного лизиса, проявляющегося выявлением ШИК-положительного материала в центре лизированных лимфоидных фолликулов, или фолликулярной атрофии, проявляющейся наличием единичных мелких темных лимфоидных фолликулов без герминативных центров, и плазмочитарной инфильтрации в паракортикальной зоне диагностируют II стадию ПГЛ, при выявлении наличия лимфоидного истощения, проявляющегося гиалинозом или отсутствием лимфоидных фолликулов, фиброзом и ангиоматозом в паракортикальной зоне и утолщением капсулы и трабекул, диагностируют III стадию ПГЛ, при выявлении наличия туберкулеза, проявляющегося очагами казеозного некроза с наличием клеток Пирогова-Лангханса, или криптококкоза, проявляющегося наличием мелких полупрозрачных сферических грибов в любом отделе лимфатического узла с наличием продуктивного воспалительного ответа, или гистоплазмоза, проявляющегося наличием отдельных клеток с внутриклеточными грибами с перифокальным хроническим продуктивным воспалением и наличием фибробластов и эпителиодных гранулем, диагностируют IV стадию ПГЛ, а при выявлении наличия оппор-

тунистической инфекции, проявляющейся тотальной делимфотизацией, диффузной инфильтрацией криптококками без продуктивного воспалительного ответа, диагностируют V терминальную стадию ПГЛ.

Изобретение относится к медицине и может быть использовано в патологической анатомии, судебной медицине, клинике инфекционных болезней.

Персистирующая генерализованная лимфаденопатия (ПГЛ) является характерным клиническим проявлением ВИЧ-инфекции [1].

Известен способ морфологической диагностики ПГЛ путем применения общего метода окрашивания изучаемых срезов лимфатических узлов в обзорных окрасках (гематоксилином и эозином) с последующим описанием наблюдаемых морфологических изменений фолликулов лимфатического узла [2, 3].

Недостатками данного способа являются: отсутствие четких критериев дифференцировки морфологических стадий ПГЛ; отсутствие описания изменений капсулы и трабекул на разных стадиях ПГЛ; отсутствие критериев, указывающих на взаимосвязь морфологических изменений лимфатического узла с возбудителями оппортунистических инфекций и заболеваний, патогенетически связанных с ВИЧ-ассоциированным инфекционным процессом; отсутствие исследования серийных срезов лимфатических узлов, что не позволяет оценить состояние структур лимфатического узла во всех его отделах.

Наиболее близким к предлагаемому способу морфологической диагностики ПГЛ является способ морфологической диагностики ПГЛ путем применения общего метода окрашивания изучаемых срезов лимфатических узлов в обзорных окрасках (гематоксилином и эозином), согласно которому морфологическая картина лимфатических узлов при ВИЧ-инфекции может соответствовать одному из трех предложенных авторами паттернов: паттерн А, характеризующийся "цветущей" фолликулярной гиперплазией, паттерн В, характеризующийся прогрессирующей инволюцией лимфоидных фолликулов, и паттерн С, характеризующийся фолликулярным истощением кортикального слоя лимфоузлов [4] (прототип).

Недостатками прототипа являются:

отсутствие критериев дифференцировки морфологических стадий ПГЛ;

отсутствие критериев, указывающих на взаимосвязь морфологических изменений лимфатического узла с возбудителями оппортунистических инфекций и заболеваний, патогенетически связанных с ВИЧ-ассоциированным инфекционным процессом.

Задача, на решение которой направлено предлагаемое изобретение, заключается в разработке высокоинформативного, демонстративного и легко воспроизводимого в условиях любой гистологической лаборатории способа диагностики морфологических стадий ПГЛ у ВИЧ-инфицированных пациентов, независимо от клинической стадии ВИЧ-инфекции, включая ВИЧ-инфицированных пациентов с отсутствием данных о ВИЧ-статусе пациента.

Технический результат способа заключается в повышении объективности оценки определения морфологической стадии персистирующей генерализованной лимфаденопатии у пациента с ВИЧ-инфекцией.

Задача решается предлагаемым способом диагностики стадий персистирующей генерализованной лимфаденопатии у пациента с ВИЧ-инфекцией заключающимся в том, что проводят морфологическое исследование лимфатического узла, причем гистохимическую обработку серийных срезов лимфатического узла проводят путем последовательного окрашивания каждого из срезов гематоксилином и эозином, ШИК и пикрофуксином по Ван-Гизону, после чего осуществляют микроскопическое исследование окрашенных срезов и при выявлении наличия гиперплазии лимфоидных фолликулов с широким герминативным центром и четко дифференцированной мантийной зоной, а также наличия моноцитарной В-клеточной гиперплазии диагностируют I стадию ПГЛ (фиг. 1), при выявлении наличия

фолликулярного лизиса, проявляющегося выявлением ШИК-положительного материала в центре лизированных лимфоидных фолликулов, или фолликулярной атрофии, проявляющейся наличием единичных мелких темных лимфоидных фолликулов без герминативных центров, и плазмоцитарной инфильтрации в паракортикальной зоне диагностируют II стадию ПГЛ (фиг. 2), при выявлении наличия лимфоидного истощения, проявляющегося гиалинозом или отсутствием лимфоидных фолликулов, фиброзом и ангиоматозом в паракортикальной зоне и утолщением капсулы и трабекул, диагностируют III стадию ПГЛ (фиг. 3, 4), при выявлении наличия туберкулеза, проявляющегося очагами казеозного некроза с наличием клеток Пирогова-Лангханса, или криптококкоза, проявляющегося наличием мелких полупрозрачных сферических грибов в любом отделе лимфатического узла с наличием продуктивного воспалительного ответа, или гистоплазмоза, проявляющегося наличием отдельных клеток с внутриклеточными грибами с перифокальным хроническим продуктивным воспалением и наличием фибробластов и эпителиодных гранулем, диагностируют IV стадию ПГЛ (фиг. 5), а при выявлении наличия оппортунистической инфекции, проявляющейся тотальной делимфотизацией, диффузной инфильтрацией криптококками без продуктивного воспалительного ответа, диагностируют V терминальную стадию ПГЛ (фиг. 6).

Изобретение иллюстрируется следующими фигурами:

фиг. 1 - I стадия ПГЛ: гиперплазия лимфоидных фолликулов с широкими герминативными центрами, дифференцированной мантийной и маргинальной зонами (длинные стрелки), диффузная моноцитарная В-клеточная гиперплазия (короткая стрелка).

фиг. 2 - II стадия ПГЛ: единичные мелкие лимфоидные фолликулы без герминативных центров (длинные стрелки), в паракортикальной зоне плазмоцитарная инфильтрация (короткая стрелка).

фиг. 3 - III стадия ПГЛ: отсутствие лимфоидных фолликулов (длинная стрелка), кортикальной и паракортикальной зонах - ангиоматоз и фиброз.

фиг. 4 - III стадия ПГЛ: гиалиноз лимфоидных фолликулов (длинная стрелка), в кортикальной и паракортикальной зонах ангиоматоз (короткие стрелки).

фиг. 5 - IV стадия ПГЛ: обширные зоны казеозного некроза (короткая стрелка) с наличием многоядерных клеток Пирогова-Лангханса (длинная стрелка).

фиг. 6 - V стадия ПГЛ: тотальная делимфотизация, диффузная инфильтрация криптококками (длинная стрелка), без признаков продуктивного воспалительного ответа.

Для подтверждения эффективности способа диагностики морфологических стадий ПГЛ приводим примеры конкретных клинических наблюдений.

1. Пациент С., д-з: ВИЧ-инфекция, стаж инфицирования с 1996 г., содержание CD4+ - 752 клетки (01.2017); заключение гистологического исследования лимфоузлов в СМПО ГУЗ "Гомельское областное клиническое патологоанатомическое бюро" № 12569 (2017 г.): определяются гиперплазированные лимфоидные фолликулы с расширенными герминативными центрами, вокруг отдельных фолликулов определяется маргинальная зона, в кортикальной и паракортикальной зонах моноцитарная В-клеточная гиперплазия. Заключение: ПГЛ (ВИЧ-ассоциированное поражение лимфатических узлов), I стадия.

2. Пациент К., д-з: ВИЧ-инфекция; заключение гистологического исследования лимфоузлов в СМПО ГУЗ "Гомельское областное клиническое патологоанатомическое бюро" № 3321-22 (2017 г.): определяется делимфотизация ткани лимфатического узла, лимфоидные фолликулы не определяются, в кортикальном и паракортикальном слое выраженный ангиоматоз, очаговый фиброз, резкое утолщение капсулы и отдельных трабекул лимфатического узла. Заключение: ПГЛ, III стадия.

3. Пациентка Д., 1980 г.р., д-з: ВИЧ-инфекция; заключение гистологического исследования лимфоузлов в ООП № 1 г. Гродно № 44163 (2013 г.): лимфома с нулевым иммунотипом, по структуре ближе к анапластической крупноклеточной лимфоме. С учетом

морфологических изменений в узлах и наличия оппортунистического заболевания установлена V стадия ПГЛ (ВИЧ-ассоциированного поражения лимфатических узлов).

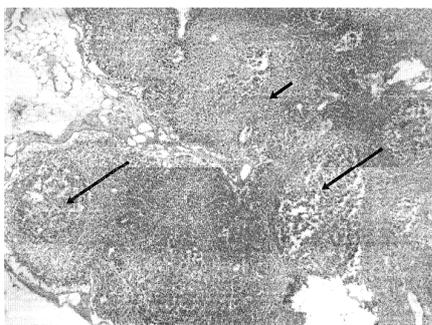
4. Пациентка Р., д-з: ВИЧ-инфекция; заключение гистологического исследования лимфоузлов в СМПО ГУЗ "Гомельское областное клиническое патологоанатомическое бюро" № 4189 (2016 г.): определяются гиперплазированные лимфоидные фолликулы с расширенными герминативными центрами, вокруг фолликулов определяется широкая маргинальная и мантийная зона, в паракортикальной зоне моноцитарная В-клеточная гиперплазия. Заключение: ПГЛ, I стадия.

Предлагаемый способ диагностики стадий ПГЛ у пациента с ВИЧ-инфекцией имеет высокую достоверность, легко воспроизводим в условиях любой гистологической лаборатории и обладает относительно низкой стоимостью. Позволяет при микроскопическом исследовании комплексно оценивать изменения всех основных гистологических структур лимфатического узла (капсулы, трабекул, лимфоидных фолликулов, маргинальной зоны фолликула, мантийной зоны фолликула, синусов, сосудов). Использование данного способа на серийных гистологических срезах с дополнительными гистохимическими методами окраски (ШИК, пикрофуксин по Ван-Гизону) позволяет максимально объективизировать гистологическое заключение и минимизировать количество ошибок при оценке состояния лимфатического узла.

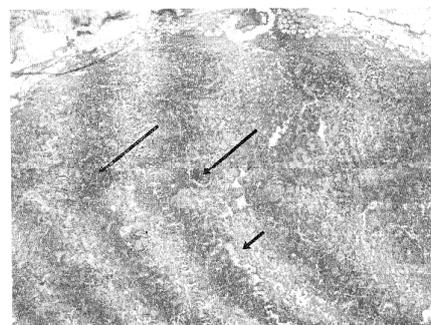
Данный способ может быть использован при изучении морфологических особенностей протекания ВИЧ-инфекции на различных клинических стадиях, а также позволит дать объективную комплексную оценку состояния пациента в динамике при "стертой" клинической картине. Использование морфологических критериев при исследовании лимфатических узлов у пациентов с неизвестным ВИЧ-статусом позволит гистологу заподозрить наличие ВИЧ-инфекции у пациента, а инфекционисту своевременно назначить специфическую терапию.

Источники информации:

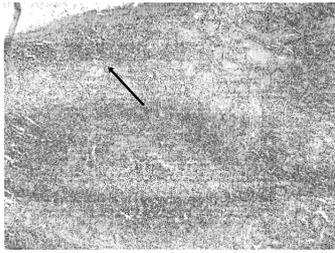
1. Bennett J.E., Dolin R., Blaser M.J., Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. - Philadelphia, PA: Saunders Elsevier, 2015. - 1549 p.
2. Kradin R.L. Diagnostic pathology of infectious disease // Philadelphia, PA: Saunders Elsevier, 2010. 301-302 p.
3. Wright D.H., Addis B.J. Diagnostic Lymph Node Pathology / A.S.-Y. Leong. -London: Hodder Education, 2006. 19 p.
4. Olteanu H., Harrington A., Kroft S.H. Lymph nodes. -NY: demosMEDICAL, 2013. - 8-9 p.



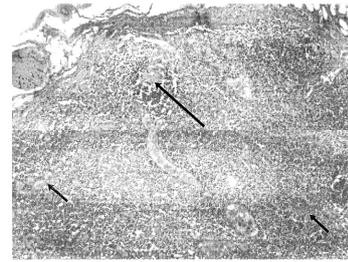
Фиг. 1



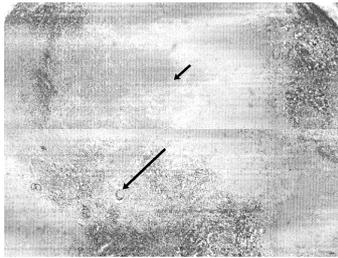
Фиг. 2



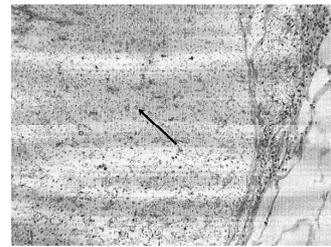
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6