

## ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА КРИПТОКОКОЗУ ЛЕГЕНЬ ТА НИРОК ПРИ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ/СНІД

С. З. Баран<sup>1,2</sup>, О. О. Дядик<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика

<sup>2</sup>Комунальне некомерційне підприємство «Київська міська клінічна лікарня №5»

В статті представлено результати ретроспективного аналізу двадцяти летальних випадків пацієнтів із ВІЛ-інфекцією/СНІД та поєднаним криптококозом. У процесі дослідження визначались наявність, кількість та локалізація клітин гриба, морфологічні особливості, а також характер і виразність запальної клітинної реакції у тканинах легень і нирок, проводили клініко-морфологічне співставлення отриманих результатів.

Патоморфологічна характеристика ураження нирок і легень поліморфна, представлена множинними фокусами некрозу в окремих випадках запальноклітинною реакцією у вигляді формування гранулематозного запалення, а також скупченням криптококів. Макроскопічна картина мало специфічна. Це зумовлює необхідність проведення не лише рутинного гістологічного, а й додаткових гістохімічних методів діагностики. В усіх проаналізованих випадках криптококове ураження було генералізованим на тлі вираженого імунодефіциту. Характер і виразність патологічних змін залежить від численних факторів, провідними з яких є рівень імуносупресії, проведення етіотропної терапії та тривалість захворювання.

**Ключові слова:** ВІЛ-інфекція/СНІД, інвазивний криптококоз, *Cryptococcus neoformans*, гранулематоз.

## PATHOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CRYPTOCOCCOSIS OF THE LUNGS AND KIDNEYS IN CASE OF HIV INFECTION/AIDS

S. Z. Baran<sup>1,2</sup>, O. O. Dyadik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Shupyk National Healthcare University of Ukraine

<sup>2</sup>Municipal non-commercial enterprise «Kyiv City Clinical Hospital No. 5»

**Background.** The article presents the results of a retrospective analysis of twenty fatal cases of patients with HIV infection/AIDS and combined cryptococcosis. In the course of the research, presence, number and localization of fungal cells, morphological features, as well as the nature and expressiveness of the inflammatory cellular reaction in the tissues of the lungs and kidneys were determined, and a clinical and morphological comparison of the obtained results was carried out. The pathomorphological characteristics of kidney and lung damage are polymorphic, represented by multiple areas of necrosis, in some cases, by an inflammatory cell reaction in the form of granulomatous inflammation, as well as an cryptococci accumulation. The macroscopic picture is not very specific, which makes it necessary to carry out not only routine histological, but also additional histological diagnostic methods. In all cases, the cryptococcal lesion was generalized against the background of pronounced immunodeficiency. The nature and expressiveness of pathological changes depends on numerous factors, the leading ones of which are the level of immunosuppression, etiologic therapy, and the duration of the disease. The purpose of the work is to assess and characterize the clinical and morphological characteristics of kidney and lung lesions in patients with cryptococcosis and HIV infection/AIDS.

**Material and methods.** Retrospective analysis of twenty fatal cases of patients with HIV infection/AIDS and combined cryptococcosis. A histological study was carried out using staining of tissue samples with hematoxylin and eosin.

**Results.** The pathomorphological pattern of lung and kidney damage is polymorphic. For cryptococcosis of the lungs, the predominance of capsule-less forms is more characteristic, which may be due to the primary affect that originates in the lungs, as an entrance gate, and the subsequent generalization of the infectious process. The average number of fungal cells per field of view was  $90 \pm 9$  for lung tissues with a ratio of encapsulated to non-encapsulated forms of  $1.2 \pm 0.5$ . Granuloma formation was observed in 2 (10 %) of the investigated cases. For cryptococcosis of the kidneys, a special feature is the formation of pseudocysts with a massive accumulation of fungal tissues in their lumen. The average number of fungal cells per field of view was  $50 \pm 10$  with a ratio of encapsulated to non-encapsulated forms of about 1:  $1 \pm 0.3$ . Alternative-necrotic changes also prevailed in kidney tissue samples in most of the studied samples.

**Conclusions.** Generalized cryptococcosis with damage to the lungs and kidneys in patients with HIV infection is observed with severe immunosuppression, the morphological picture is polymorphic, varying from pronounced alternative-necrotic changes to the formation of granulomas in isolated cases. Despite the fact that the leading cause of death is damage to the nervous system, the generalization of the infectious process leads to multiple organ failure, which should be taken into account in the context of thanatogenesis and when formulating a patho-anatomical diagnosis.

**Keywords:** HIV-infection/AIDS, invasive cryptococcosis, *Cryptococcus neoformans*, granulomatosis.

**Вступ.** ВІЛ-інфекція є однією з найсерйозніших проблем, що постали перед людством у ХХ столітті. За роки свого існування вона перетворилась із захворювання, що уражає окремі контингенти населення, на повномасштабну епідемію, котра охопила всі країни світу. З кожним роком кількість ВІЛ-інфікованих невинно зростає [1, 2]. У надто великої кількості людей у всьому Європейському регіоні ВООЗ діагноз ВІЛ-інфекції ставиться на пізніх стадіях (53 %), що підвищує ризик погіршення стану здоров'я, летального результату та подальшого поширення ВІЛ-інфекції [3]. Відповідно й збільшується ймовірність розвитку опортуністичних захворювань. Одним із найбільш життєвозагрозливих і важкоперебігаючих опортуністичних інфекцій є криптококоз.

Криптококоз являє собою інвазивний мікоз, що є причиною менінгоенцефаліту та дисемінованих уражень, тісно асоційований із імунодефіцитними станами, в тому числі, інфікуванням ВІЛ-інфекцією.

Збудником захворювання є монофазний гриб, що не утворює міцелію чи псевдоміцелію та має аналогічні морфологічні характеристики і в культурі, і в гістологічних зрізах тканин, стійкий у зовнішньому середовищі. У досліджуваному матеріалі криптококи виявляються як доволі крупні дріжджові клітини, як правило округлої форми, що мають середній діаметр 2–10 мкм [4, 5]. Характерними рисами морфології мікроміцету є чітко окреслена оболонка, одиночне брунькування, желатиноподібна капсула в окремих грибів, поява серповидної, двояко увігнутої та інших форм при дегенерації та відмиранні гриба [6].

В переважній більшості випадків при криптококозі відбувається генералізація інфекційного процесу: кількість уражених органів варіює від трьох до восьми. Найчастіше органами-мішенями є центральна нервова система, рідше - легені, нирки, лімфатичні вузли. Не дивлячись на те, що в більшості випадків криптококоз перебігає у формі менінгіту, криптококова пневмонія – одна з досить частих грибкових пневмоній у пацієнтів із ВІЛ-інфекцією. Вхідними воротами для інфекції слугують легені, та, ймовірно, безсимптомна легенева інфекція зустрічається частіше, ніж пневмонія з клінічними проявами. Криптококова пневмонія може мати як повільний перебіг, так і швидке прогресування [7]. Макроскопічна картина при криптококовій інфекції малоспецифічна, інколи схожа з ураженнями вишкликаними мікобактерією туберкульозу.

Відомо, що ризик розвитку грибкової інфекції визначається ступенем виразності імунодефіциту. Серед ВІЛ-інфікованих пацієнтів, за відсутності специфічної противірусної терапії та зниженні CD4+ лімфоцитів-хелперів у периферичній крові менше 200 кл/мкл, частота захворювання криптококозом складає від 4 до 30 % та значно зменшується при застосуванні антиретровірусної терапії [8].

Вірогідність розвитку криптококозу певною мірою залежить від біологічних властивостей збудника – його вірулентності, здатності формувати капсулу, загальної кількості клітин, що потрапили до організму. До основних факторів патогенності криптококів відносять наявність у них полісахаридної капсули і меланіну, їх здатність до росту при 37°C, значний вміст уреаз, фосфоліпази, а також здатність до статевого розмноження [9].

Існує певний зв'язок між виразністю запальної тканинної реакції та наявністю чи відсутністю у клітин криптокока капсули. Запальна клітинна реакція на присутність гриба може змінюватися від добре сформованих гранульом, в яких криптококи знаходяться всередині макрофагів та гігантських багатоядерних клітин, до мізерно представленої запальноклітинної реакції з багаточисельними позаклітинними мікроорганізмами, що приховують і руйнують архітектоніку тканин [10, 11]. Запальні гранульоматозні клітинні реакції також демонструють спектр від гранульом з вираженими некротичними змінами до фіброзних гранульом. У деяких випадках фіброз настільки інтенсивний, з великою кількістю пухких веретеноподібних клітин – фібробластів, наявністю лімфоцитів, плазматичних клітин, що виникає видимість псевдопухлини [12].

**Мета дослідження:** оцінювання та характеристика клініко-морфологічних особливостей уражень нирок і легень у пацієнтів із криптококозом та ВІЛ-інфекцією/СНІД.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження проводилось на аутопсійному матеріалі померлих із верифікованою ВІЛ-інфекцією за період з 2010 по 2022 роки. При аналізі медичних карт амбулаторних пацієнтів і протоколів патологоанатомічного дослідження відібрано 20 випадків відповідно до критеріїв включення. Клінічний діагноз дисемінованого криптококозу з ураженням центральної нервової системи був встановлений у вісімнадцяти пацієнтів прижиттєво на підставі аналізу цереброспінальної рідини, у двох випадках – посмертно, в зв'язку з короткочасним перебуванням у стаціонарі (менше 6 годин).

Проведено гістологічне дослідження з використанням забарвлення зразків тканини гематоксиліном та еозином. При рутинному патоморфологічному дослідженні оцінювали наявність, кількість і локалізацію клітин гриба, їх патоморфологічні особливості, характер і активність клітинної запальної реакції ураженої тканини. Кількісні розрахунки клітин гриба проводили у 5 полях зору мікроскопу при збільшенні  $\times 400$ . Визначали загальну кількість криптококів в одному полі зору, а також відсоток клітин без капсули, інкапсульованих і деформованих форм. Розраховували співвідношення кількості інкапсульованих і безкапсульних форм криптококів у тканинах легень та нирок.

Якісний і морфометричний аналіз гістологічних препаратів проводився на світловому мікроскопі Nikon eclipse E100 з приставкою фотокамерою DLT-Cam PRO 5 MP. Статистичне оброблення кількісних даних здійснювалось за допомогою ліцензійних програмних продуктів, що входять у пакет Microsoft Office Professional 2019 (Excel). Статистично значущими вважали відмінності між порівнюваними показниками на рівні 95 % ( $p < 0,05$ ).

**Результати та їх обговорення.** В дослідження увійшли данні історій хвороб та аутопсій від 20 пацієнтів, у гендерному співвідношенні 10 (50 %) чоловіків та 10 (50 %) жінок. Більшість пацієнтів молодого працездатного віку від 30 до 52 років (середній вік становив 37,5). Основні скарги при зверненні за медичною допомогою: головний біль, підвищення температури, нудота, загальна слабкість. Тривалість перебування в стаціонарі представлена діаграмою на рис. 1.

Найвищі показники летальності пацієнтів із криптококозом припадають на перші 14 днів перебування в стаціонарі.

Антиретровірусну терапію отримувало 4 (20 %) із 20 досліджуваних. Етіотропну антимікотичну терапію на етапі стаціонару отримували 18 пацієнтів. Рівень CD4+ Т-лімфоцитів-хелперів на момент надходження в стаціонар у 12 (60 %) пацієнтів був менше 100 кл/мкл. При аналізі причин смерті пацієнтів звертає на себе увагу, що провідною причиною смерті було ураження центральної нервової системи у вигляді менінгіту або менінгоенцефаліту. Тропізм до центральної нервової системи обумовлений оптимальною концентрацією поживних речовин (тіаміну, глутамінової кислоти, глутаміну, дофаміну, вуглеводів і мінералів) у цереброспі-

нальній рідині (ЦСР), що можуть засвоюватися грибом, а також неактивністю системи комплекменту у спинномозковій рідині та слабкістю або відсутністю запальної активності в тканині мозку. Криптоковий менінгіт є прогностично несприятливим та загрозливим фактором прогнозу захворювання та значною мірою свідчить про дисемінацію інфекційного процесу.

Аналіз даних патологоанатомічного дослідження свідчить, що генералізація криптококозу часто діагностується на постмортальному етапі, після проведення гістологічного дослідження. Перебіг захворювання характеризується формуванням поліорганної недостатності, ураженням центральної нервової системи, клінічні прояви ураження інших органів є мало- або неспецифічними, що значно утруднює верифікацію етіологічного чинника. Крім того, обтяжуючим фактором є наявність важкої супутньої та поєднаної патології, що значно обтяжує перебіг основного захворювання.

На клінічному етапі доволі важко верифікувати всі уражені органи-мішені, оскільки це вимагає додаткових методів діагностики, проте суттєво не впливає на призначення етіотропної терапії. Звертає на себе увагу що навіть при своєчасній діагностиці криптококового ураження, проведення етіотропної терапії займає значний проміжок часу – 14 днів індукційна терапія та 8 тижнів консолідуєча терапія [13].

Отже, своєчасність звернення за медичною допомогою, точність та швидкість діагностичних і лікувальних процедур відіграють ключову роль у виживаності пацієнтів із криптококозом. Характерною особливістю довготривалого перебігу криптококозу є переважання безкапсульних форм, що обумовлено розмноженням збудника. Патоморфологічна картина ураження нирок проілюстрована на рис. 2, легень – на рис. 3.

Тканина нирки з масивними альтеративно-некротичними змінами, наявні конгломерати псевдокістозних утворень порожнини яких заповнені криптококами різного ступеню зрілості, оточені запальноклітинним валом, скупчення криптококів спостерігається в клубочках з їх частковим заміщенням.

Тканина легень із потовщеними міжальвеолярними перетинками, інфільтровані макрофагами, лімфоцитами, гістіоцитами та масивною інфільтрацією криптококами. Гранулематозне запалення в тканині легень представлене масивним форму-

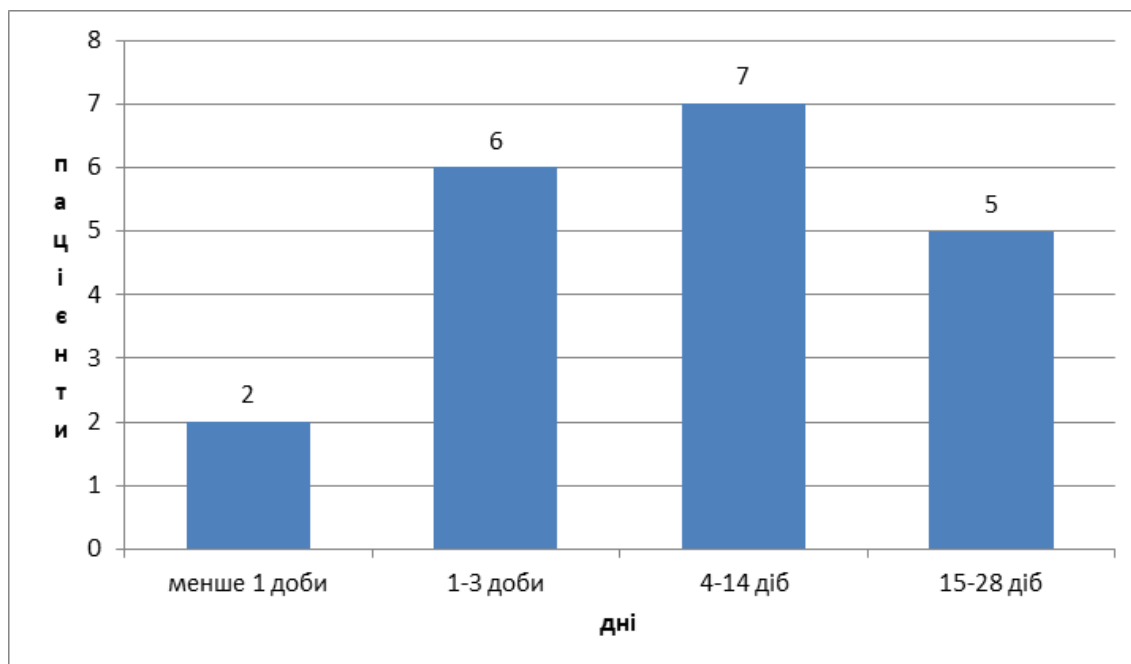


Рис. 1. Тривалість перебування пацієнтів у стаціонарі

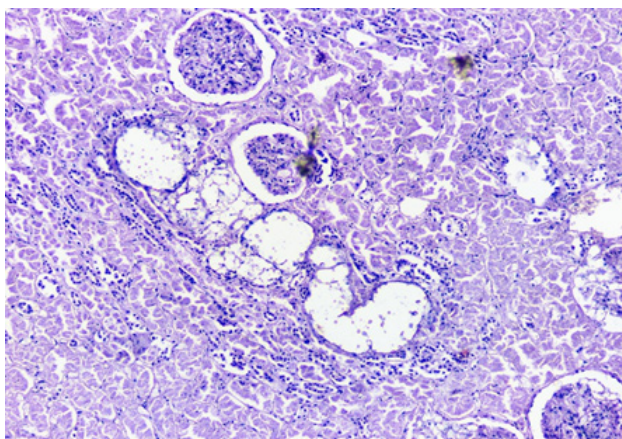


Рис. 2. Мікропрепарат нирки. Забарвлення: гематоксилін та еозин. Збільшення x200

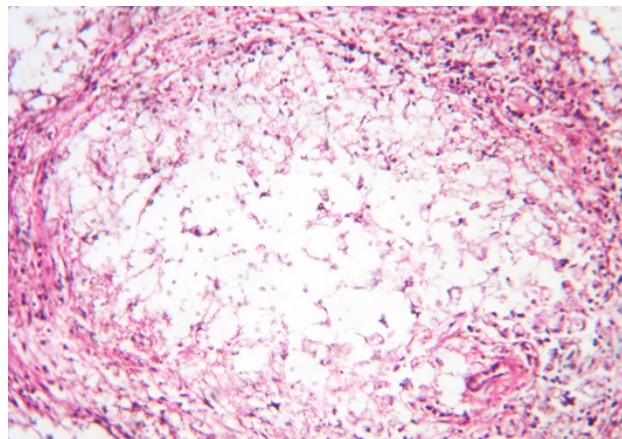


Рис. 3. Мікропрепарат легень. Криптококова гранульома. Забарвлення гематоксилін та еозин. Збільшення x200



ванням фіброзу навколо скупчення криптококів. У просвітах альвеол на фоні набрякової рідини наявні криптококи різного ступеню зрілості.

Патоморфологічна картина ураження легень та нирок поліморфна. Для криптококозу легень більш характерне переважання безкапсульних форм, що може бути обумовлено первинним афектом який виникає в легенях, як вхідних ворота та подальшою генералізацією інфекційного процесу. Середня кількість клітин гриба на одне поле зору становила  $90 \pm 9$  для тканин легень з співвідношенням інкапсульованих до безкапсульних форм  $1:2 \pm 0.5$ . Формування гранульом спостерігалось у 2 (10 %) досліджуваних випадків.

Для криптококозу нирок особливою ознакою є формування псевдокіст з масивним скупченням тканин гриба в їх просвіті. Середня кількість клітин гриба на одне поле зору становила  $50 \pm 10$  із співвідношенням інкапсульованих до безкапсульних форм близько 1:  $1 \pm 0.3$ . Також у зразках тканин нирки переважали альтеративно-некротичні зміни у більшості досліджуваних зразків.

**Висновки.** 1. Генералізований криптококоз із ураженням легень та нирок у пацієнтів із

#### Література.

1. ВІЛ-інфекція в Україні. Інф. бюлетень № 31. – К. : МОЗ України, Інф. Центр профілактики і боротьби зі СНІДом, 2009. – 2 с.
2. ВІЛ-інфекція в Україні. Інф. бюлетень № 46. – К. : МОЗ України, Інф. Центр профілактики і боротьби зі СНІДом, 2016. – 3 с.
3. ВІЛ-інфекція в Україні. Інф. Бюлетень № 52. – К. : МОЗ України, Центр громадського здоров'я, 2021. – 14 с.
4. Инфекционные и паразитарные болезни. Т. 2 / Возианова Ж. И. – К. : Здоров'я, 2001. – 696 с.
5. Proven pulmonary cryptococcosis due to capsule-deficient *Cryptococcus neoformans* does not differ clinically from proven pulmonary cryptococcosis due to capsule-intact *Cr. neoformans* / Torres H. A., Prieto V. G., Raad I. I., Kontoyiannis D. P. // *Mycoses*. – 2005. – № 48(1). – P. 21-24.
6. Системный криптококкоз, ассоциированный с ВИЧ-инфекцией (собственное клинико-патоморфологическое наблюдение) / Кузовкова С. Д., Лискина И. В. // *Сучасні інфекції*. – 2010. – № 3. – С. 66-71.
7. Заболевания органов дыхания при ВИЧ-инфекции (Обзор) / Пузырева Л. В., Сафонов А.

ВІЛ-інфекцією спостерігається при вираженій імуносупресії, морфологічна картина при цьому поліморфна, варіює від виражених альтеративно-некротичних змін до формування гранульом в одиничних випадках.

2. Криптококовий менінгіт є прогностично не сприятливою ознакою перебігу та може свідчити про дисемінацію процесу з ураженням нирок та легень, навіть без вираженої клінічної картини.

3. Довготривалий перебіг криптококозу характеризується переважанням безкапсульних форм у досліджуваних зразках тканин.

4. При діагностиці генералізованого криптококозу на постмортальному етапі доцільно використовувати додаткові методи гістологічних досліджень, зокрема: фарбування альціановим синім, використання *Pas*-реакції, для верифікації усіх вогнищ ураження.

5. Не зважаючи на те, що провідною причиною смерті є ураження нервової системи, проте генералізація інфекційного процесу приводить до поліорганної недостатності, що варто враховувати в контексті танатогенезу та при формулюванні патологоанатомічного діагнозу.

Д., Мордык А. В. // *Журнал инфектологии*. – 2016. – Т. 8, № 2. – С. 17-25.

8. Кликоморфологическая характеристика криптококкоза при ВИЧ-инфекции / Чарушина И. П., Зотова Н. В. // *Журнал инфектологии*. – 2012. – Т. 4, № 4. – С. 65-70.

9. The role of mating type and morphology in *Cryptococcus neoformans* pathogenesis / Wiekes B. L. // *Int. J. Med. Microbiol.* – 2002. – № 292. – P. 313-329.

10. Histopathology, serology and cultures in the diagnosis of cryptococcosis / Gazzoni A. F., Severo C. B., Salles E. F., Severo L. C. // *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. – 2009. – № 51. – P. 255-259.

11. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century / Guarner J., Brandt M. E. // *Clinical microbiology reviews*. – 2011. – Vol. 24. – P. 247-280.

12. Cryptococcal inflammatory pseudotumors / Sing Y., Ramdial P. K. // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2007. – № 31. – P. 1521-1527.

13. Протокол діагностики, профілактики та лікування криптококової інфекції у ВІЛ-інфікованих дорослих, підлітків та дітей: доповнення до консолідованого протоколу застосування анти-

ретровірусних препаратів для лікування та профілактики ВІЛ-інфекції. – Женева, 2016 : Всесвітня організація охорони здоров'я, 2018 р. Ліцензія: CC BY-NC-SA 3.0.

### References.

1. VIL-infektsiia v Ukraini [HIV infection in Ukraine] (2009). Inf. Bulletin No. 31. Kyiv: Ministry of Health of Ukraine, Inf. AIDS prevention and control center. [In Ukrainian].
2. VIL-infektsiia v Ukraini [HIV infection in Ukraine] (2016). Inf. Bulletin No. 46. Kyiv: Ministry of Health of Ukraine, Inf. Center for prevention and fight against AIDS. [In Ukrainian].
3. VIL-infektsiia v Ukraini [HIV infection in Ukraine] (2021). Inf. Bulletin No. 52. Kyiv: Ministry of Health of Ukraine, Center for Public Health. [In Ukrainian].
4. Vozianova, Zh. I. (2001). Infektsionnyie i parazitarnyie bolezni [Infectious and parasitic diseases]. Zdorov'ya (Health), Vol. 2. [In Russian].
5. Torres, H. A., Prieto, V. G., Raad I. I., Kontoyiannis, D. P. (2005). Proven pulmonary cryptococcosis due to capsule-deficient *Cryptococcus neoformans* does not differ clinically from proven pulmonary cryptococcosis due to capsule-intact *Cr. neoformans*. *Mycoses*. 48(1), 21-4.
6. Kuzovkova, S. D., Liskina, I. V. (2010). Sistemnyiy kriptokokkoz, assotsiirovannyiy s VICH-infektsiyei (sobstvennoe kliniko-patomorfologicheskoe nablyudenie) [Systemic cryptococcosis associated with HIV infection (own clinical and pathomorphological observation)]. *Suchasni Infektsiyi (Modern infections)*, 3, 66-71. [In Russian].
7. Puzyrjova, L. V., Safonov, A. D., Mordyk, A. V. (2016). Zabolevaniya organov dyhaniya pri VICH-infektsii (Obzor) [Diseases of respiratory organs at HIV infection (review)]. *Zhurnal infektologii (Journal of Infectology)*. 8(2), 17-25. [In Russian].
8. Charushina, I. P., Zotova, N. V. (2012). Klinikomorfologicheskaya harakteristika kriptokokkoza pri VICH-infektsii [Clinic-morphological characteristics of Cryptococcosis in HIV-infective patients.] *Zhurnal infektologii (Journal of Infectology)*. 4(4), 65-70. DOI: 10.22625/2072-6732-2012-4-4-65-70. [In Russian].
9. Wiekes, B. L. (2002). The role of mating type and morphology in *Cryptococcus neoformans* pathogenesis. *Int. J. Med. Microbiol.* 292, 313-329. DOI: 10.1078/1438-4221-00216.
10. Gazzoni, A. F., Severo, C. B., Salles, E. F., Severo, L. C. (2009). Histopathology, serology and cultures in the diagnosis of cryptococcosis. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 51, 255-259. DOI: 10.1590/s0036-46652009000500004.
11. Guarner, J., Brandt, M. E. (2011). Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clinical microbiology reviews.* 24, 247-280. DOI: 10.1128/CMR.00053-10.
12. Sing, Y., Ramdial, P. K. (2007). Cryptococcal inflammatory pseudotumors. *Am. J. Surg. Pathol.* 31, 1521-1527. DOI: 10.1097/PAS.0b013 e318040ad0a.
13. Protocol for the diagnosis, prevention and treatment of cryptococcal infection in HIV-infected adults, adolescents and children: addition to the consolidated protocol for the use of antiretroviral drugs for the treatment and prevention of HIV infection. (2018). Geneva 2016: World Health Organization; License: CC BY-NC-SA 3.0.

### ORCID:

Olena O. Dyadyk: 0000-0002-9912-4286

Serhiy Z. Baran: 0000-0002-6276-4757