

28/23

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Н.Кроткова

15.05. 2023 г.

Регистрационный номер №_

**МЕТОД ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ
АНЕВРИЗМ ГРУДНОГО ОТДЕЛА АОРТЫ**

Инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: учреждение образования
Белорусский государственный медицинский университет,
Государственное учреждение «Республиканский клинический
медицинский центр» Управления делами Президента Республики
Беларусь

АВТОРЫ: д-р. мед. наук, профессор А.С. Рудой, канд. мед. наук, доцент
О.А. Юдина, Я.И. Валюженич.

Минск 2022

В настоящей инструкции по применению (далее инструкции) изложен метод дифференциальной диагностики аневризм грудного отдела аорты.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику заболеваний аорты.

Инструкция предназначена для врачей патологоанатомов, врачей кардиохирургов, врачей кардиологов и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с заболеваниями аорты в стационарных условиях.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Аневризмы грудного отдела аорты.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Отсутствуют.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РЕАКТИВОВ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И ДР.:

1. Аппарат для автоматической проводки гистологического материала
2. Микротом
3. Микроскоп световой
4. Гистологические кассеты
5. Лабораторная посуда стеклянная и пластиковая
6. Предметные стекла
7. Покровные стекла
8. Канадский бальзам

9. Ксилол
10. Спирт этиловый различных концентраций
11. Гистамикс
12. Гистологические красители: гематоксилин и эозин, пентахром по Мовату

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1. ПОЛУЧЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВКА БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА.

1.1. Послеоперационные фрагменты аневризмы грудной аорты, полученные на границе расслоения и неизменной части, а также проксимальных и дистальных отделах резекции (не менее 6 фрагментов) герметично запаковывают в маркированный флакон с достаточным объемом 10% раствора нейтрального забуференного формалина (масса раствора должна превышать массу объекта минимум в 5 раз);

1.2. К материалу должно прилагаться заполненное направление согласно постановления Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 46 от 7 мая 2021 г. «О порядке проведения патологоанатомического исследования».

2. МАКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И ОПИСАНИЕ БИОПТАТА

2.1. Извлечение из флакона всего присланного материала

2.2. Описание точного количества присланных объектов. Измерение размеров фрагментов аорты и их описание в биопсийной карте.

3. ОКРАСКА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ СРЕЗОВ

Толщина срезов для окраски - 3 мкм.

3.1. Гематоксилин и эозин - базовая окраска;

3.2. Пентахром по Мовату для выявления различных компонентов соединительной ткани;

4. АНАЛИЗ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ (ОЦЕНИВАЕМЫХ ПРИЗНАКОВ) ПРИ СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ:

4.1. описание всех слоев стенки (интимы, медиа, адвентиции) и объема патологического процесса;

4.2. Интима:

4.2.1. Внутренняя эластическая мембрана;

4.2.2. Липиды;

4.2.3. Пролиферация гладкомышечных клеток (ГМК);

4.2.4. Склероз;

4.3. Медиа:

4.3.1. Ориентация окончатых эластических мембран (ОЭМ);

4.3.2. Ориентация ГМК;

4.3.3. Соотношение ГМК и волокон;

4.3.4. Гроздьевидные структуры;

4.3.5. Миграция *vasa vasorum*;

4.3.6. Объединение гроздьевидных структур;

4.3.7. Объединение *vasa vasorum*;

4.3.8. Щель расслоения;

4.3.9. Фибрин;

4.3.10. Грануляции;

4.3.11. Эндотелизация щели расслоения;

4.3.12. Мукоидное накопления во внеклеточном матриксе;

4.3.13. Фрагментация и / или потеря эластичных волокон;

4.3.14 Потеря ядер ГМК;

4.3.15 Ламинарный медийный коллапс.

4.4. Адвентиция:

- 4.4.1. Пролиферация vasa vasorum;
- 4.4.2. Склероз;
- 4.4.3. Воспалительная инфильтрация: диффузная или очаговая, распространенность, распределение и клеточный состав, формирование гранулем.

5. ФОРМУЛИРОВКА ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОГО ЗАКЛЮЧЕНИЯ И ДИАГНОЗА

5.1. Диагноз включает клинико-морфологические корреляции и гистологический паттерн поражения.

5.2. Обязательно указание:

5.2.1. Мукоидного накопления во внеклеточном матриксе;

5.2.2. Фрагментации и / или потеря эластичных волокон;

5.2.3. Потери ядер ГМК;

5.2.4. Ламинарный медийный коллапс;

5.2.5. Степени медийной дегенерации;

5.3. Представить дифференциальный диагноз. Примеры гистологического заключения представлены в Приложении 1.

5.4. Оформить протокол морфологического исследования фрагментов восходящей аорты согласно Приложения 2.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА АНЕВРИЗМ ГРУДНОГО ОТДЕЛА АОРТЫ

Нозология	Ассоциированная патогистологическая картина*
Синдром Марфана (C>87.4)	MD+++ , МЕМА-Т+++ , SMCL+ , EFF+++
Синдром Элерса-Данло (сосудистый тип) (Q79.6)	MD+ , МЕМА-Т+
Синдром Тернера (Q96)	MD++ , МЕМА-Т+++
Синдром артериальной извитости (I77)	MD++ , EFF+++
Синдром Шпрингцена-Гольдберга (Q87.8)	МЕМА+
Аутосомно-доминантный поликистоз почек (Q61.2)	МЕМА+

Семейные аневризмы (расслоения) грудной аорты (Q25.4)	MD++, EFF++
Аневризма/расширение/расслоение аорты при артериальной гипертензии (I10)	MD+, MEMA+, EFF+, Fn+++, VV++
Аневризма/расширение/расслоение аорты атеросклеротическая (I71)	MD+, EFF++, W+++, Lps+++, LI+
Аневризма/расширение/расслоение аорты при двустворчатом аортальном клапане (Q23.8)	MD++, MEMA-I++, SMCL+, EFF+, VV++
Аортит при воспалительных (неспецифических) заболеваниях клапанов сердца и миокарда (I79.1*/I08.2, I33.0, I35.8, I38, I01.1)	LI+++, MEMA-I++, MEMA-T+, VV+
Сифилитический аортит (A52.0).	PI+++, MEMA-I++, MEMA-T+, VV++

, где от + до +++ - степень выраженности; EFF - фрагментация и (или) потеря эластических волокон; MEMA - накопление мукоидного внеклеточного матрикса; T - трансламеллярное; I - интраламеллярное; MD - медийная дегенерация; SMCL - потеря ядер гладкомышечных клеток; LI - лейкоцитарная инфильтрация; PI - плазмоцитарная инфильтрация; W - миграция сосудов в медию; Lps - липиды; Fn - фибриноидное набухание/некроз

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ УСТРАНЕНИЯ

Осложнений при применении данного метода не зарегистрировано.

Ошибки в применении метода могут быть обусловлены:

- неправильным взятием и фиксацией патоморфологического материала;

- использованием просроченных или неправильно хранившихся реагентов;

- неправильным разведением реактивов, несоблюдением временного и температурного режима при проведении методики;

- при наличии несоответствия требованиям размеров и формы фрагмента ткани аорты;

Во избежание возникновения ошибочных результатов необходимо строго соблюдать все методические требования при выполнении биопсии и проведении гистологического исследования.

Контроль клинической эффективности не требуется.

ПРИМЕРЫ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ЗАКЛЮЧЕНИЯ

1. В присланном на патогистологическое исследование материале представлены три равновеликие полулунные заслонки аортального клапана, которые несколько увеличены в линейных размерах без значимого увеличения толщины. Также прислан фрагмент восходящей аорты диаметром 4,9 см длиной 6 см. Интима аорты при визуальном осмотре гладкая, цвета слоновой кости с единичными короткими поперечными линейными дефектами.

Подготовленные по стандартной методике гистологические препараты толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и пентахромом по Мовату.

При микроскопии на малом увеличении отмечали, что соотношение слоев аорты преимущественно сохранено. В её интима выявляли короткие по протяженности фокусы склероза с признаками начального накопления липидов без формирования бляшек. Наиболее выраженными были изменения в меди аорты. В глубоких отделах меди на границе с адвентицией выявлена эндотелизированная зона расслоения. В других полях зрения в меди отмечали уменьшение количества, разрыхление и снижение плотности упаковки окончательных эластических мембран. Щели между ними были заполнены базофильным основным веществом с формированием «гроздьевидных» структур (ламеллярный тип МЕМА) и вовлечением соседних структур (трансламеллярный тип МЕМА). Описанные гроздьевидные структуры нарушали ориентировку коллагеновых, эластических и мышечных клеток меди. В адвентиции наблюдали кровоизлияние в проекции щели расслоения и миграцию сосудов из адвентиции в медию.

Эластические волокна при окраске пентахромом по Мовату - с очагами тотального эластолиза без признаков репарации.

Клапанный эндокард полулунных заслонок аортального клапана со значительным расширением спонгиозной зоны свободного края без изменения соотношения и конфигурации волокон и клеток соединительной ткани.

Заключение: патогистологические изменения в пользу невоспалительной аортопатии с расслоением на фоне наследственных нарушений соединительной ткани. Для верификации нозологии необходимы клиничко-морфологические корреляции.

2. В присланном на патогистологическое исследование материале представлены фрагменты восходящей аорты 1,5x4см и 2x6 см толщиной до 0,9 см с линейными дефектами.

Подготовленные по стандартной методике гистологические препараты толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

При микроскопии на малом увеличении структура аорты грубо нарушена: выявляются острые и хронические процессы, изменяющие взаимоотношение слоев стенки аорты. К острым процессам можно отнести некроз средней части меди и с формированием щели расслоения по продольной оси меди. К хроническим процессам - эндотелизацию дефекта в зоне расслоения, миграцию *vasa vasorum* из адвентиции в медию в проекции ее некроза и расслоения, а также выраженные изменения адвентиции, давность которых значительная. Изменения адвентиции можно охарактеризовать как выраженный фиброз, обусловленный разрастанием зрелой неорганизованной волокнистой соединительной ткани с неоангиогенезом и диффузной воспалительной инфильтрацией. Состав воспалительного инфильтрата в резко утолщенной и фиброзированной адвентиции и его плотность

отличаются в разных полях зрения: в областях, удаленных от зоны некроза и расслоения, инфильтрат рыхлый и представлен гистиоцитами, фибробластами и эозинофильными лейкоцитами, а в проекции некроза - плотный, состоящий преимущественно из полиморфноядерных нейтрофильных лейкоцитов с мелкими фокусами абсцедирования. Адвентиция в проекции расслоения покрыта рыхлым фибрином, её мелкие сосуды паретично расширены и резко полнокровны.

Заключение: учитывая данные патогистологического исследования, можно считать, что некроз меди и расслоение аорты носят вторичный по отношению к фиброзу адвентиции характер. В дифференциальной диагностике возможных причин фиброза необходимо рассматривать IgG4 ассоциированный склероз. Рекомендуем проведение иммуногистохимического исследования (ИГХ) исследования с IgG и IgG4 с последующей морфометрической оценкой.

Протокол морфологического исследования
фрагментов восходящей аорты

Протокол №

КРАТКИЕ ИСХОДНЫЕ ДАННЫЕ		
ФИО		
Возраст пациента		
Пол пациента: женский, мужской		
Номер гистологического исследования		
Дата исследования		
Клинический диагноз		
Краткие клинические данные		
МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ		
Макроскопическое описание	Линейные размеры: Длина Ширина Толщина Дефект: есть, нет Атеросклероз: бляшки, полосы, другое	
Микроскопическое описание*		
Окраска	Гематоксилин и эозин Орсеином по Харту Трихром по Массону Альциановым синим Пентахром по Мовату	
Соотношение слоев:		
Интима: Внутренняя эластическая мембрана Липиды Пролиферация ГМК Склероз		
Медиа: Ориентация ОЭМ Ориентация ГМК Соотношение ГМК и волокон Гроздьевидные структуры Миграция vasa vasorum Объединение гроздьевидных структур Объединение vasa vasorum Щель расслоения Фибрин Грануляции		

Эндотелизация щели расслоения Мукоидное накопления во внеклеточном матриксе Фрагментация и / или потеря эластичных волокон; Потеря ядер ГМК. Ламинарный медийный коллапс		
Адвентиция: Пролиферация vasa vasorum Склероз Воспалительная инфильтрация	Лимфоцитарная Лимфоплазмочитарная Лимфогистиоцитарная Лейкоцитарная нейтрофильная эозинофильная	
Морфометрия		
Антитело		
Толщина интимы		
Толщина меди		
Толщина адвентиции		
Длина щели расслоения		
Площадь гроздьевидных структур		
Количество ГМК		
Позитивность (отношение числа позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей x 100%),		
Индекс интенсивности в иммунопозитивных участках (отношение суммы интенсивностей пикселей с высокой, средней, низкой интенсивностью к числу позитивных пикселей),		
Общий индекс интенсивности ИГХ реакции (отношение суммы интенсивностей негативных и позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей).		

Исследование выполнил