

Afectarea măduvei hematogene la pacienții cu infecție HIV

Bone marrow involvement in HIV-infected patients

Asist. Univ. Dr. Cristina OLARIU^{1,2}, Dr. Adriana NURCIU², Dr. Iulia VASILESCU²,
Asist. Univ. Dr. Ana Maria Alexandra STĂNESCU¹, Dr. Camelia DOBRE¹, Dr. Liana STICLARU³,
Dr. Mihai OLARIU²

¹Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București

²Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof. Dr. Matei Balș”, București

³Spitalul Clinic „Colentina”, București

REZUMAT

Afectarea hematologică la pacienții HIV-SIDA constă atât în scăderea imunității, cât și în apariția citopeniilor pe una, două sau toate cele trei linii celulare. Limfomul malign non-Hodgkin (LMNH) este una dintre afecțiunile frecvent întâlnite în stadiul clinic de SIDA. Măduva hematogenă poate fi infiltrată în 21-33% dintre cazuri. Riscul de apariție a LMNH este puternic asociat cu ultimul nivel al limfocitelor CD4+.

Studiul nostru – retrospectiv, descriptiv – a fost realizat pe 25 cazuri diagnosticate cu infecție HIV, internate în perioada 2013-2017, în I.N.B.I. „Prof. Dr. Matei Balș”. Tuturor acestor pacienți li s-a efectuat puncție biopsie osoasă cu examinare histopatologică și, în unele cazuri, teste de imunohistochimie cu scopul de a evidenția determinarea medulară posibilă în cadrul limfomului, precum și corelația dintre aceasta afectare medulară și diverși parametrii clinico-biologici.

Există o predominanță a sexului masculin (68%) și o vârstă medie în serie de 33 ani. Deși un procent însemnat - 84% (21/25) au avut nivelul limfocitelor CD4+ < 200/μl, asociind în plus și diverse citopenii periferice, afectarea medulară s-a înregistrat la doar 60% dintre pacienți (15/25). Dintre aceștia, la 7 examenul histopatologic a evidențiat mielopatie HIV. Ceilalți 8 pacienți au prezentat, în proporții aproape egale, fie afectare medulară în cadrul unui limfom non-Hodgkin, fie infecție oportunistă (*Mycobacterium avium* intracelulare sau Parvovirus B19).

Evoluția pacienților la un an de la diagnostic a evidențiat un prognostic extrem de rezervat la cei cu afectare medulară în cadrul LMNH asociat infecției HIV, practic, pentru toți aceștia înregistrându-se decesul.

Pacienții HIV-SIDA au un tablou clinico-biologic polimorf, iar afectarea hematologică este una dintre cele mai constante și severe. Explorarea măduvei hematogene la acești pacienți este de un real folos pentru certificarea suspiciunii de hemopatie malignă și/sau de infecție oportunistă prezentă la acest nivel

Cuvinte cheie: virusul imunodeficienței umane (HIV), sindromul imunodeficienței dobândite (SIDA), limfocite CD4+, lactic dehidrogenaza (LDH), măduva hematogenă, limfom malign non-Hodgkin (LMNH), infecții oportuniste

ABSTRACT

Hematological involvement in HIV-AIDS patients consists of either immune deficiency or cytopenia on one, two or all the three cell lines. Available data estimate that 21-33% of HIV-infected patients develop bone marrow infiltration due to non-Hodgkin Malignant Lymphoma, one of the most commonly encountered hematological pathology in the clinical stage of AIDS. The risk of LMNH is strongly associated with the level of CD4+ lymphocytes.

Adresă de corespondență:

Asist. Univ. Dr. Cristina Olariu, Strada Dr. Calistrat Grozovici, nr. 1, Sector 2, București
E-mail: ol_cristina@yahoo.ro

Our retrospective study included 25 HIV-infected patients, hospitalized between 2013 and 2017 in The National Center for Infectious Diseases I.N.B.I. "Prof. Dr. Matei Bals". All of these patients underwent bone marrow biopsy for histopathological examination and supplementary immunohistochemistry tests in order to differentiate between lymphoma and other possible causes for bone marrow damage consistent with the clinical and biological pathological findings.

*Men gender accounted for 68% of the patients enrolled and the average age in our study was 33 years. Although 84% of the patients (21/25) had CD4+ lymphocyte levels < 200/μl associated with peripheral cytopenia, only 60% (15/25) also presented bone marrow abnormalities. Of these, the histopathological examination revealed HIV myelopathy in 7 cases while the other 8 patients presented in almost equal proportions bone marrow damage consistent with non-Hodgkin lymphoma or opportunistic infection (*Mycobacterium avium intracellulare* or *Parvovirus B19*).*

Following-up these patients one year after diagnosis we found out a fatal course in all the patients with bone marrow disease caused by HIV-associated non-Hodgkin lymphoma.

HIV infected patients have various clinical and biological abnormalities and bone marrow damage is often met and often severe. Exploring the hematogenous marrow in these patients is of real use in identifying malignant hematological pathology and enable the correct differential diagnosis from opportunistic infection of bone marrow which may complicate the course of the disease.

Keywords: human immunodeficiency virus (HIV), acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), CD4 + lymphocytes, lactic dehydrogenase (LDH), bone marrow, non-Hodgkin lymphoma, opportunistic infections

Pacienții infectați cu virusul imunodeficienței umane (HIV) au o durată de supraviețuire mai lungă în era terapiei antiretrovirale foarte active (regimurile HAART), atât prin înțelegerea mai bine a mecanismelor imunopatogenice ale infecției, cât și prin îmbunătățirea managementului clinic al infecției. Virusul imunodeficienței umane poate afecta sistemul hematopoietic la nivel central (medular) sau periferic. Afectarea hematologică se manifestă, pe lângă scăderea imunității pacientului, prin apariția citopeniilor pe una, două sau pe toate cele trei linii celulare. Anemia poate exista încă de la diagnostic (10% dintre pacienți) iar procentul crește la 70-80%, în timpul evoluției bolii (1). Leucopenia cu neutropenie poate varia între 10% la debut și 50% în stadii avansate de boală (1). Trombocitopenia poate apare ca prim și singur semn de infecție HIV în 10% dintre cazuri și poate fi regăsită până la 40% pe parcursul evoluției (1). Limfomul malign nonhodgkinian este una dintre afecțiunile ce definește stadiul clinic de SIDA (sindromul imunodeficienței dobândite) pe parcursul infecției HIV. Creșterea numărului de limfocite T CD4+ și scăderea viremiei, semne de îmbunătățire a statusului imun datorate eficienței regimului HAART, duc la scăderea incidenței limfomului (1). O serie de studii mai recente au arătat scăderea incidenței LMNH după introducerea în tratament a regimurilor HAART la pacienții infectați HIV (2,3). Un studiu efectuat în Marea Britanie a arătat că riscul de apariție a LMNH este mai puternic asociat cu ultimul nivel al numărului de limfocite CD4+ decât cu nadirul limfo-

citelor CD4+ sau cu durata imunosupresiei (4). Semnele B de boală ce pot apărea în cadrul limfoproliferărilor (febra, transpirațiile profuze, scăderea ponderală) sunt prezente la până la 80-90% dintre pacienții cu infecție HIV și limfom, iar 61-90% au afectare extraganglionară (5,6). Măduva hematogenă poate fi infiltrată în 21-33% dintre cazuri (5,6). Ghidul Asociației Britanice de HIV recomandă ca pentru indicele de prognostic al limfoamelor maligne nonhodgkiniene la pacienții cu infecție HIV, pe lângă factorii utilizați la persoanele imunocompetente – vârsta, lacticdehidrogenaza (LDH), status de performanță, afectare extranodală/stadiile III sau IV – să se țină cont și de nivelul de limfocite CD4+ (7). Nivelul de limfocite CD4+ este stabilit la 100 celule/μl la momentul diagnosticului.

OBIECTIVE

- tipul și gradul afectării medulare la pacientul HIV-SIDA;
- corelația dintre această afectare a măduvei hematogene și diverși parametri clinico-biologici (numărul limfocitelor CD4+, valoarea ARN-HIV, valoarea LDH seric);
- evoluția și prognosticul pacienților în funcție de tipul afectării medulare.

MATERIAL ȘI METODĂ

S-a realizat un studiu retrospectiv, pe o perioadă de 5 ani, 2013-2017. Studiul a fost de tip

descriptiv, pe o serie de cazuri de 25 de pacienți diagnosticați cu infecție HIV și internați în Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof. Dr. Matei Balș”. La acești pacienți s-a cercetat determinarea medulară posibilă a limfomului malign, precum și corelația dintre afectarea măduvei hematogene și diverși parametri clinico-biologici. Tuturor pacienților li s-a efectuat puncție biopsie osoasă din creasta iliacă postero-superioară și analiza histopatologică a fragmentului rezultat, în unele cazuri realizându-se și teste imunohistochimice.

Aproape toți pacienții pe care i-am avut în vedere pentru puncția biopsie osoasă au prezentat adenopatii sesizate clinic și/sau imagistic prin ecografie, tomografie computerizată, rezonanță magnetică nucleară. Dimensiunile ganglionilor au variat de la 1,5 cm până la mase ganglionare de 7-8 cm, dispuse în diferite zone anatomice. Un singur pacient nu a prezentat adenopatii. Pancitopenia sau citopeniile de diferite grade, pe diverse linii celulare, au fost, de asemenea, un criteriu pentru care s-a practicat puncția biopsie osoasă. Parametrii luați în considerare pentru realizarea bazei de date au fost: vârsta, sexul, numărul de leucocite, numărul de neutrofile, numărul de limfocite, numărul de limfocite T CD4+, viremia, valoarea hemoglobinei, numărul de trombocite, valoarea LDH. De asemenea, s-a mai urmărit durata de supraviețuire a pacienților la care măduva hematogenă era afectată.

Pentru prelucrarea statistică a datelor am utilizat programul MicrosoftExcel 2010. În cadrul statisticii descriptive am utilizat indicatori de tendință centrală (media aritmetică, modul, mediana) și indicatori ce caracterizează împrăștierea datelor în jurul unei valori medii (intervalul, deviația standard, eroarea standard, percentile și coeficientul de variație).

Numărul minim normal de limfocite T CD4+ este de 400/μl, iar riscul de apariție al afecțiunilor maligne hematologice și cel de prezență al citopeniilor pe diferite linii și de grade variabile crește odată cu scăderea imunității, practic a numărului de limfocite T helper CD4 +. Funcție de valoarea limfocitelor T CD4 + pacienții au fost împărțiți în 4 categorii: număr normal (peste 400/μl – gradul 1), 200-400/μl – gradul 2, 100-200/μl – gradul 3 și sub 100/μl – gradul 4.

Obiectivele au fost să găsim posibila determinare medulară de limfom la pacienții cu infecție HIV, dacă există o corelație a afectării medulare cu nivelul limfocitelor T CD4 + și al viremiei (ARN-HIV) și, de asemenea, dacă modificările

medulare se asociază cu diversele citopenii apărute. Pentru aceasta am folosit tabelele de conțință (Tabelul 1).

TABELUL 1

	Factor de risc (limfocite CD 4+, ARN-HIV, citopenii)		
	Da	Nu	
Afectarea măduvei hematogene	Da A	Nu b	
	Nu c	d	
Rezultatele analizei statistice			
Odds Ratio (OR) și riscul relativ (RR) Interval de confidență (CI)	P		
OR = a x d/b x c RR = a x (c+d)/c x (a+b)			

REZULTATE

Repartiția pacienților din punct de vedere al sexului a arătat o predominanță a celor de sex masculin (68%), majoritatea cazurilor (17), atât la bărbați, cât și la femei, fiind cele cu limfocitele CD4+ sub 100/μl (Tabelul 2).

TABELUL 2

Nivel de CD4+	Sex feminin	Sex masculin	Proporția pacienților	
			F	B
1 (valoare normală)	2	0	25%	0
2 (200-400/μl)	0	2	0	11,7%
3 (100-200/μl)	0	4	0	23,52%
4 (<100/μl)	6	11	75%	64,7%
Total	8 (32%)	17 (68%)		

Vârstele pacienților au variat între 22 de ani și 62 de ani, cu o vârstă medie în seria de cazuri de 33 de ani.

Valoarea normală ale limfocitelor T CD4 + este 400-1590 celule/μl. Numărul de limfocite T CD4+ măsurat la cei 25 de pacienți a înregistrat valori între 3 și 1.000 celule/μl. Doar 2 pacienți au prezentat valori normale ale limfocitelor CD4+, restul având valori sub limita inferioară a normalului. Majoritatea pacienților – 21 (84%) aveau limfocite CD4+ < 200/μl (Tabelul 3).

TABELUL 3

Nivel limfocite CD4 +	Pacienți
Grad 1 (număr normal, > 400 celule/μl)	2
Grad 2 (200-400 celule/μl)	2
Grad 3 (100-200 celule/μl)	4
Grad 4 (<100 celule/μl)	17

Am urmărit și corelația între nivelul limfocitelor CD4+ și modificările medulare: afectare

medulară în cadrul infecției HIV, infiltrare în cadrul sindroamelor limfoproliferative, infiltrare determinată de infecții oportuniste. La lotul studiat s-a constatat o corelație între cei doi parametri (nivelul limfocitelor CD4+ și afectarea medulară), dar această corelație nu este semnificativă statistic ($p > 0,05$). O posibilă explicație ar fi că seria de cazuri cuprinde doar 25 de pacienți, iar pentru a putea avea un rezultat semnificativ statistic este necesar un lot mai mare de pacienți (Tabelul 4).

TABELUL 4

		Limfocite CD4+ < 200/ μ l	
		Da	Nu
Afectare medulară	Da	12	3
	Nu	9	1
Rezultatele analizei statistice			
Odds Ratio (OR) și riscul relativ (RR)		P	
Interval de confidență (CI 95%)			
OR = 0,4815 RR = 0,9028		0,5535	

Hemograma a fost modificată în toate cele 25 de cazuri, cu o singură excepție. Cazul respectiv s-a prezentat clinic cu adenopatii, iar paraclinic cu valori normale ale hemoglobinei și trombocitelor, dar cu leucocitoză cu limfocitoză importantă – 7.460/ μ l, dintre care majoritatea erau limfocite CD3+. Puncția biopsie osoasă nu a relevat modificări în acest caz (Tabelul 5).

TABELUL 5

Valori	Hemoglobină (g/dl)	Leucocite (μ l)	Neutrofile (μ l)	Limfocite (μ l)	Trombocite (μ l)
Minimă	5,9	1.210	440	90	16.000
Maximă	12,2	14.650	9.710	2.800	456.000
Mediana	8,6	2.600	1.500	640	107.000

Lactic dehidrogenaza (LDH) este inclusă în scorul de prognostic al limfoamelor maligne (1), dar această enzimă poate crește și în alte afecțiuni, de la sepsis la hemoliză. Valorile normale în cadrul laboratorului nostru sunt cuprinse între 313 și 618 UI/l. Din totalul pacienților, un număr de 5 (20%) au avut LDH normal, restul de 20 (80%) au avut valori peste limita superioară a normalului. Dintre cei 20 cu valori crescute, valoarea cea mai mică a fost de 647 UI/l, iar valoarea maximă 21.067 UI/l, cu o mediană de 1.465 UI/l.

Valoarea cea mai mare s-a găsit la un pacient care prezenta leucocitoză cu neutrofilie, anemie

moderată și trombocitopenie severă. La examenul histopatologic s-a găsit o măduvă hematogenă hipercelulară prin infiltrare limfoidă malignă difuză (>90%) cu celulă medie, rotunjită, cromatină fină, 2-3 nucleoli, caracter compact al proliferării, foarte frecvente mitoze și apoptoze, aspect de „cer înstelat” – diagnostic de LMNH de tip limfom Burkitt/leucemie acută limfoblastică tip 3. Celelalte două cazuri de limfom cu determinări medulare au avut valori ale LDH de 1.414 UI/l, respectiv 4.323 UI/l.

Rezultatele histopatologice în urma efectuării puncției biopsie din creasta iliacă le-am împărțit în trei categorii:

1. pacienți la care măduva hematogenă nu era afectată;
2. pacienți care prezentau o afectare în cadrul infecției HIV;
3. pacienți care aveau la acest nivel modificări sugestive pentru o afecțiune hematologică sau infecție oportunistă (Tabelul 6).

TABELUL 6

Aspect histopatologic al măduvei hematogene		Pacienți	
Fără afectare		10 (40%)	
Aspect de mielopatie HIV		7 (28%)	
Modificări sugestive pentru afecțiune hematologică		8 (32%)	
	infecție oportunistă	4	4

Din totalul de 25 de pacienți, s-au încadrat în prima categorie un număr de 10 (40%). Dintre aceștia, 2 pacienți au fost diagnosticați cu limfom malign non-Hodgkin cu celulă mare B, dar pe biopsia ganglionară. După cum menționam și la început, numai 25-33% dintre limfoamele maligne pot duce și la afectarea măduvei hematogene la pacienții infectați HIV. Un alt pacient din cei 10 a prezentat – la examenul de citometrie în flux – limfocitoză cu peste 7.000 limfocite CD3+.

În cea de a doua categorie, am încadrat 7 (28%) pacienți. La aceștia, măduva hematogenă prezintă un aspect hipo- sau hipercelular, dar cu modificări de hematopoieză ineficientă, cu prezența de displazie pe diferite linii celulare, cu prezența de megakariocite denudate. Se constată și o ușoară densificare a fibrelor de reticulină, precum și o ușoară creștere a depozitelor de hemosiderină la unii dintre pacienți.

În cea de a treia categorie, sunt 8 (32%) pacienți. Trei dintre ei au fost diagnosticați cu LMNH în urma examenului histopatologic (Fig. 1). Un caz a prezentat LMNH cu celulă mare B, iar două cazuri aspect sugestiv pentru LMNH de tip

Burkitt. Un alt pacient a fost diagnosticat cu hipoplazie medulară – granulocitopenie, având o măduvă hematogenă hipocelulară cu componentă celulară de numai 30%. Alți 3 pacienți au avut modificări caracteristice de mielită granulomatoasă cu prezența de leziuni granulomatoase unele cu necroze centrale, cu hipoplazie pe serie granulocitară și modificări displazice la nivelul mekacariocitelor. La unul dintre acești 3 pacienți, s-au găsit și bacili acid-alcool rezistenți pozitivi și PAS pozitivi intracelulari la nivelul histiocitelor, ceea ce a dus la concluzia de infecție intramedulară cu *Mycobacterium avium intracellulare*. Toți acești pacienți cu determinare medulară de infecție cu mycobacterii au avut și reacția PCR (polymerase chain reaction) pozitivă. Cel de-al patrulea pacient care prezenta leucopenie cu limfopenie, anemie severă, numărul de limfocite CD4+ 10 celule/ μ l a prezentat la examenul histopatologic o importantă eritroblastopenie, eritroblaști „giganți”, cu citoplasmă intens bazofilă, redusă cantitativ, nucleul cu cromatină fină și nucleoli proeminenți și cu prezența intracitoplasmatică de incluzii virale, diagnosticul fiind de aplazie eritroidă secundară infecției cu *Parvovirus B19* (Fig. 2).

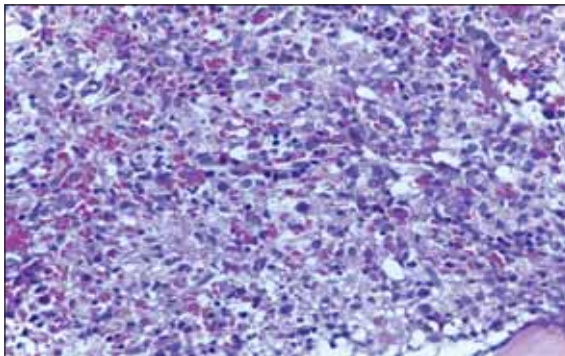


FIGURA 1. Infiltrare medulară de LMNH difuz cu celulă mare B (colorație hematoxină-eozină, obiectiv 40)

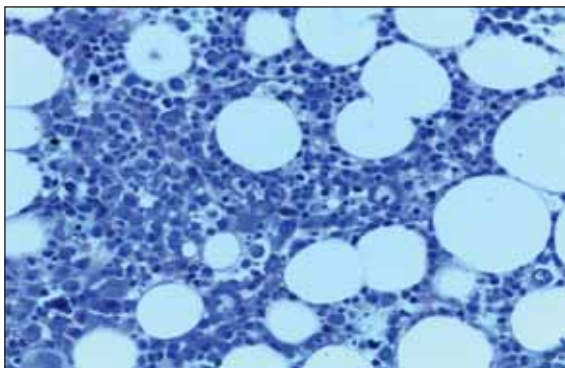


FIGURA 2. Infiltrare medulară cu parvovirus B19. Hipoplazie medulară cu rari eritroblaști giganti (colorație hematoxină-eozină, obiectiv 40)

Încărcătura virală (ARN-HIV) a fost determinată tuturor pacienților, fiind găsite diferite va-

lori. La 4 dintre aceștia, a fost nedetectabilă. Valoarea maximă a viremiei a fost de 10.000.000 copii/ml, iar valoarea minimă de 64 copii/ml. La pacienții cu afectare medulară, viremia a fost de ordinul zecilor și sutelor de mii de copii/ml, exceptând cazul cu aplazie eritroidă prezentat anterior, la care viremia a fost de 118 copii/ml. Dintre pacienții cu viremie nedetectabilă, 3 nu au avut modificări la nivelul măduvei hematogene, unul singur a prezentat modificări displazice tipice infecției HIV.

Evoluția pe o perioadă de un an a celor 25 de pacienți din seria de cazuri studiată este prezentată în Tabelul 7.

TABELUL 7

Aspect histopatologic al măduvei hematogene	Pacienți	
	Evoluție favorabilă	Deces
Fără afectare	10	0
Aspect de mielopatie HIV	5	2
Modificări sugestive pentru afecțiune hematologică	0	4
infecție oportunistă	2	2

Doi dintre pacienții care nu au prezentat infiltrare medulară, dar au fost diagnosticați cu LMNH cu celulă mare au urmat tratament chimioterapic combinat cu terapie de tip HAART, evoluția fiind favorabilă la un an de la punctua biopsie osoasă. Evoluție favorabilă au avut și ceilalți 8 pacienți fără afectare medulară.

Dintre cei la care s-a descris mielopatie HIV la examenul histopatologic, 2 pacienți au decedat din cauza infecțiilor oportuniste survenite pe parcursul evoluției bolii.

Pacienții cu determinare medulară de LMNH au decedat, ei având un prognostic rezervat (scorul 4-5, conform Ghidului Asociației Britanice de HIV). De asemenea, a decedat și pacientul cu hipoplazie granulocitară.

Dintre cei care aveau infecție medulară cu germeni oportuniști au decedat 2, pacientul cu aplazie eritroidă pură având o evoluție favorabilă.

DISCUȚII

În urma acestui studiu retrospectiv, efectuat pe o serie de 25 de cazuri, s-au desprins mai multe aspecte. Astfel, deși toți pacienții (cu o singură excepție) au prezentat adenopatii, la examenul măduvei hematogene doar 15 (60%) au avut modificări, pentru ceilalți 10 pacienți (40%) aspectul medular fiind unul normal.

De asemenea, deși un număr de 21 de pacienți (84%) au avut nivelul de limfocite CD4+ sub

200/ μ l, iar marea lor majoritate au prezentat diferite citopenii, nu toți au prezentat afectare medulară.

La 80% dintre pacienți, s-au înregistrat valori crescute ale LDH, dar nu întotdeauna această valoare crescută trebuie corelată cu suspiciunea de boală limfoproliferativă ce poate apărea în cadrul infecției HIV.

Afectarea medulară la pacienții cu LMNH asociat infecției HIV afectează grav prognosticul, practic toți decedând în primul an de la diagnostic.

CONCLUZII

Pacienții HIV-SIDA au un tablou clinico-biologic polimorf, iar afectarea hematologică este

una dintre cele mai constante și severe. Explorarea măduvei hematogene la acești pacienți este de un real folos pentru certificarea suspiciunii de hemopatie malignă și/sau de infecție oportunistă prezentă la acest nivel, cu implicații clinico-terapeutice importante.

Una dintre limitele acestui studiu este numărul redus de pacienți, de numai 25, și de aceea considerăm necesare noi studii, pe loturi mai largi de pacienți, pentru a putea înregistra modificările de la nivel medular și corelațiile acestora cu o serie de parametri clinico-biologici, cu scopul realizării unui model de afectare medulară la pacienții infectați cu virusul imunodeficienței umane.

BIBLIOGRAFIE

1. **Reid E.G.** Hematologic Manifestation of Acquired Immunodeficiency Syndrome in: Williams Hematology 8th edition an imprint of McGrawHill Medical 2010:1175-1189
2. **Besson C., Goubar A., Gabarre J. et al.** Changes in AIDS-related lymphoma since the era of highly active antiretroviral therapy. *Blood* 98, 2339–2344,2001.
3. **Herida M., Mary-Krause M., Kaphan R. et al.** Incidence of non-AIDS-defining cancers before and during the highly active antiretroviral therapy era in a cohort of human immunodeficiency virus-infected patients. *J. Clin. Oncol.* 21, 3447–3453, 2003.
4. **Bower M., Fisher M., Hill T. et al.** CD4 counts and the risk of systemic non-Hodgkin's lymphoma in individuals with HIV in the UK. *Haematologica* 94 (6), 875–880, 2009.
5. **Levine A.M.** Acquired Immunodeficiency Syndrome-related lymphoma (review, *Blood* 80:8,1992
6. **Lim S.T., Karim R., Tulpule A. et al.** Prognostic factors in HIV-related diffuse large-cell lymphoma: Before versus after highly active antiretroviral therapy. *J. Clin Oncol* 23:8477,2005
7. **Bower M., Gazzard B., Mandalia S. et al.** A prognostic index for systemic AIDS-related non-Hodgkin lymphoma treated in the era of highly active antiretroviral therapy. *Ann. Intern. Med.* 143, 265–273 2005.