

УДК 616.91-06:616.61-008.6-036.12-037
DOI: 10.35693/2500-1388-2022-7-2-85-88

Результаты цитологического исследования аспиратов костного мозга у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией в зависимости от уровня вирусной нагрузки

Д.В. Калашникова^{1, 3}, А.В. Мордык^{1, 2}, Л.В. Пузырева^{1, 2}

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России (Омск, Россия)

²БУЗОО «Клинический противотуберкулезный диспансер №4» (Омск, Россия)

³БУЗОО «Областная клиническая больница» (Омск, Россия)

Аннотация

Цель – определение специфических изменений в костном мозге у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией в зависимости от вирусной нагрузки.

Материал и методы. Выполнен анализ миелограмм у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией. У всех пациентов в гемограмме имелась двух- или трехростковая цитопения.

Результаты. У пациентов с уровнем вирусной нагрузки выше 100 001 копий/мл достоверно чаще отмечалась гипоклеточность каждого из ростков кроветворения, гиперклеточность зарегистрирована только в миелограммах пациентов с уровнем вирусной нагрузки менее 100 001 клеток/мл. При оценке признаков миелодисплазии в костном мозге изменения мегакарицитарного ростка (образование голаядерных клеток, дизмегакариоцитопоз) характерны для пациентов с уровнем вирусной нагрузки менее 10 000 копий/мл. Признаки дисплазии гранулоцитарного ростка чаще определяются у пациентов с уровнем вирусной нагрузки более 100 001 копий/мл.

Ключевые слова: цитопения, ВИЧ-инфекция, вирусная нагрузка, миелодисплазия.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Калашникова Д.В., Мордык А.В., Пузырева Л.В. Результаты цитологического исследования аспиратов костного мозга у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией в зависимости от уровня вирусной нагрузки. Наука и инновации в медицине. 2022;7(2):85-88.

doi: 10.35693/2500-1388-2022-7-2-85-88

Сведения об авторах

Калашникова Д.В. – ассистент кафедры госпитальной терапии, эндокринологии;

врач-гематолог отделения гематологии и химиотерапии.

ORCID: 0000-0001-8016-1039

E-mail: dashenkabar@mail.ru

Мордык А.В. – д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой фтизиатрии, фтизиохиргии и инфекционных болезней; врач-фтизиатр, врач-пульмонолог. ORCID: 0000-0001-6196-7256

E-mail: amordik@mail.ru

Пузырева Л.В. – канд. мед. наук, доцент кафедры фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней; врач-фтизиатр.

ORCID: 0000-0003-0495-3645

E-mail: puzireval@mail.ru

Автор для переписки

Калашникова Дарья Владимировна

Адрес: Омский государственный медицинский университет, ул. Ленина, 12, г. Омск, Россия, 644099.

E-mail: dashenkabar@mail.ru

Рукопись получена: 20.12.2021

Рецензия получена: 21.01.2022

Решение о публикации принято: 01.02.2022

Results of cytological examination of bone marrow aspirates in patients with HIV infection and cytopenia in correlation with viral load

Darya V. Kalashnikova^{1, 3}, Anna V. Mordyk^{1, 2}, Larisa V. Puzyreva^{1, 2}

¹Omsk State Medical University (Omsk, Russia)

²Clinical Tuberculosis Dispensary No.4 (Omsk, Russia)

³Regional Clinical Hospital (Omsk, Russia)

Annotation

Aim – determination of specific changes in the bone marrow in patients with HIV infection and cytopenia, depending on the viral load.

Material and methods. We analysed myelograms of patients with HIV infection and cytopenia. All patients had bicytopenia or pancytopenia in the hemogram.

Results. In patients with a viral load over 100 001 copies/ml, the hypocellularity of each of the hematopoietic cell line was significantly more often observed, hypercellularity was recorded only in the myelograms of patients with a viral load of less than 100 001 copies/ml. When assessing the signs of myelodysplasia in the bone marrow, changes in the megakaryocyte lineage (the formation of naked cells, dysmegakaryocytopoiesis) were typical for patients with a viral load of

less than 10 000 copies/ml. Signs of dysplasia of the granulocytic lineage are more often determined in patients with a viral load of more than 100 001 copies/ml.

Keywords: cytopenia, HIV infection, viral load, myelodysplasia.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Kalashnikova DV, Mordyk AV, Puzyreva LV. Results of cytological examination of bone marrow aspirates in patients with HIV infection and cytopenia in correlation with viral load.

Science and Innovations in Medicine. 2022;7(2):85-88.

doi: 10.35693/2500-1388-2022-7-2-85-88

Information about authors

Darya V. Kalashnikova – Assistant of the Department of Hospital therapy, endocrinology; hematologist, Department of Hematology and Chemotherapy.

ORCID: 0000-0001-8016-1039

E-mail: dashenkabar@mail.ru

Anna V. Mordyk – PhD, Professor, Head of the Department of Phthisiology, phthisiosurgery and infectious diseases, phthisiatrician, pulmonologist.
ORCID: 0000-0001-6196-7256
E-mail: amordik@mail.ru
Larisa V. Puzyreva – PhD, Associate professor of the Department of Phthisiology, phthisiosurgery and infectious diseases; phthisiatrician.
ORCID: 0000-0003-0495-3645
E-mail: puzirevalv@mail.ru

Corresponding Author

Darya V. Kalashnikova
Address: Omsk State Medical University, 12 Lenin st.,
Omsk, Russia, 644099.
E-mail: dashenkabar@mail.ru

Received: 20.12.2021

Revision Received: 21.01.2022

Accepted: 01.02.2022

ВВЕДЕНИЕ

ВИЧ-инфекция и ее осложнения уже много лет являются одной из наиболее обсуждаемых проблем в мире. На 69 сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения поставлена цель к 2030 году положить конец эпидемии СПИДа как одной из угроз для здоровья населения [1]. Распространенность вируса иммунодефицита человека различна в разных странах, но особенно высока она в странах с низким и средним доходом, что остается большой проблемой для органов общественного здравоохранения [2].

Множественные взаимодействующие факторы способствуют развитию гематологических проявлений ВИЧ-инфекции. Вирус иммунодефицита человека влияет на все клоны гемопоэтических клеток, приводя к целому ряду гематологических аномалий. Даже при отсутствии других патологических процессов морфология костного мозга не соответствует норме, часто имеют место анемия, нейтропения и тромбоцитопения. Развитие цитопении у пациентов с ВИЧ-инфекцией на фоне приема антиретровирусной терапии и без нее вызывает большой интерес. У пациентов с ВИЧ-инфекцией в стадии вторичных заболеваний с цитопенией в гемограмме после высокоактивной антиретровирусной терапии наблюдается восстановление иммунитета, сопровождающееся увеличением количества лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов и уровня гемоглобина, при этом в костном мозге могут сохраняться специфические аномалии [3].

В последние годы научные исследования показали очень разные результаты в отношении изменений костного мозга среди пациентов с ВИЧ-инфекцией [4]. Наибольшее количество исследований, связанных с изучением поражения костного мозга у пациентов с ВИЧ-инфекцией, в настоящий момент проводится в районах с наибольшим распространением инфекции (страны Африки, Азии). Так, при оценке значимости выполнения исследований костного мозга у пациентов инфекционных отделений в ЮАР установлено, что исследования костного мозга полезны в качестве диагностического инструмента в сложных клинических ситуациях. Эта диагностическая опция особенно применима к пациентам, у которых неинвазивные стандартные исследования на выявление причин цитопений в периферической крови не принесли должного результата. Выполнение цитологического исследования костного мозга и трепанобиопсии в этих обстоятельствах позволяет вносить изменения в планы лечения пациента и улучшает прогноз для пациента [5].

В России исследования костного мозга у пациентов с ВИЧ-инфекцией выполняются крайне редко, при

подозрении на развитие ВИЧ-ассоциированных лимфопролиферативных заболеваний.

ЦЕЛЬ

Определение специфических изменений в костном мозге у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией в зависимости от вирусной нагрузки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 30 пациентов, из которых 19 человек – мужчины (63,33%), 11 – женщины (36,67%). Возраст участников исследования: 2 пациента (6,67%) в возрасте от 20 до 29 лет, 15 пациентов (50%) – от 30 до 39 лет, 10 пациентов (33,34%) – от 40 до 49 лет и 3 пациента (9,99%) – в возрасте старше 50 лет.

При оценке по стадиям ВИЧ-инфекции у 2 человек врачом-инфекционистом диагностирована 3 стадия ВИЧ (6,67%), у 5 человек (16,67%) установлена 4А стадия, у 13 человек (43,32%) – 4Б стадия и у 10 пациентов (33,34%) – 4В стадия ($d=0,982$, $p>0,05$).

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России. Выполнен анализ миелограмм у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией, которые были госпитализированы в БУЗОО «Клинический противотуберкулезный диспансер №4» и БУЗОО «Областная клиническая больница». У всех пациентов в гемограмме имелась двух- или трехростковая цитопения. Анемией считалось снижение гемоглобина менее 130 г/л у мужчин и менее 120 г/л у женщин. Эритроцитопенией считалось снижение эритроцитов менее $4,76 \times 10^{12}/л$. Лейкопению определяли как снижение общего числа лейкоцитов менее $4,0 \times 10^9/л$, снижение абсолютного количества нейтрофилов менее 1000 клеток/мкл решено было считать нейтропенией. Тромбоцитопения диагностировалась при снижении уровня тромбоцитов менее $150 \times 10^9/л$. Подсчет миелограмм проводился в клинической лаборатории БУЗОО «Областная клиническая больница» и осуществлялся на 500 клеток. При подсчете клеток красного ряда за норму принималось количество клеток от 15,5% до 26,5%. Мегакариоцитарный росток считался нормоклеточным при определении в одном мазке костного мозга от 20 до 100 клеток. Норма клеток гранулоцитарного ростка устанавливалась при их количестве, равном 52,7%–68,9%. Анализ цитопений проводился по стадиям ВИЧ-инфекции без учета фазы (прогрессирования или ремиссии) и подгрупп (А, Б, В). При установлении диагноза ВИЧ-инфекции использовали Российскую классификацию ВИЧ-инфекции.

Статистические расчеты выполнялись с помощью программы Statistika 12.0. Проводился анализ

Уровень вирусной нагрузки	Менее 100 000, копий/мл n=13		Более 100 001, копий/мл n=17		χ^2	p
	Абс.	%	Абс.	%		
Цитопения						
Анемия и тромбоцитопения, n=11	6	46,15	5	29,41	3,961	0,004
Анемия и лейкопения, n=11	5	38,46	6	35,29	3,850	0,037
Панцитопения, n=8	2	15,38	6	35,29	5,206	0,010

Таблица 1. Характеристика цитопений в зависимости от вирусной нагрузки

Table 1. Characteristics of cytopenias depending on the viral load

показателей описательной статистики, достоверность различий величин и признаков в группах определяли с помощью критериев χ^2 , критерия Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При вирусной нагрузке менее 10 000 копий/мл наиболее часто встречались анемия и тромбоцитопения – 6 пациентов (46,15%), анемия и лейкопения имелись у 5 пациентов (38,46%), панцитопения – у 2 (15,38%) ($p = 0,002$, $p < 0,05$). При вирусной нагрузке более 100 001 копий/мл анемия и тромбоцитопения регистрировались у 5 пациентов (29,41%), а сочетание анемии и лейкопении и панцитопения – у 6 пациентов (35,29%) ($p = 0,034$, $p < 0,05$).

При сравнении по частоте встречаемости цитопений в зависимости от вирусной нагрузки у пациентов с уровнем копий РНК ВИЧ менее 100 000 чаще в гемограммах выявлялось сочетание анемии и тромбоцитопении – у 6 пациентов ($\chi^2 = 3,961$, $p = 0,004$), сочетанное снижение лейкоцитов и тромбоцитов, а также панцитопения чаще имелись у пациентов с уровнем вирусной нагрузки более 100 001 копий/мл ($\chi^2 = 3,850$, $p = 0,037$; $\chi^2 = 5,206$, $p = 0,010$). Данные представлены в **таблице 1**.

Уровень вирусной нагрузки	Менее 100 000, копий/мл n=13		Более 100 001, копий/мл n=17		χ^2	p
	Абс.	%	Абс.	%		
Описание ростков						
Клеточность костного мозга						
Гипокл-й, n=15	6	46,15	9	52,94	1,186	0,842
Нормокл-й, n=11	6	46,15	5	29,41	2,095	0,517
Гиперкл-й, n=4	1	7,69	3	17,65	5,974	0,043
Эритроцитарный росток						
Гипокл-й, n=19	4	30,77	15	88,24	10,972	0,002
Нормокл-й, n=8	6	46,15	2	11,76	11,537	0,003
Гиперкл-й, n=3	3	23,08	0	0	7,062	0,017
Гранулоцитарный росток						
Гипокл-й, n=11	2	15,38	9	52,94	16,121	0,003
Нормокл-й, n=16	8	61,54	8	47,06	2,177	0,610
Гиперкл-й, n=3	3	23,08	0	0	7,062	0,017
Мегакариоцитарный росток						
Гипокл-й, n=16	6	46,15	10	58,82	7,362	0,053
Нормокл-й, n=14	7	53,85	7	41,18	1,643	0,829
Гиперкл-й, n=0	0	0	0	0	0	0

Таблица 1. Сравнение результатов миелограмм пациентов в зависимости от уровня вирусной нагрузки

Table 2. Comparison of the myelograms of patients, depending on the level of viral load

Проведена оценка клеточности костного мозга по данным миелограмм у пациентов с различным уровнем вирусной нагрузки. У пациентов с уровнем вирусной нагрузки менее 100 000 копий/мл гипоклеточность и нормоклеточность в костном мозге встречались с одинаковой частотой у 6 пациентов (46,15%), у 1 пациента (7,69%) выявлялась гиперклеточность. Эритроидный росток у 6 пациентов (46,15%) этой группы был нормоклеточным, у 4 (30,77%) отмечалось снижение количества клеток красного ростка, у 3 (23,08%) их количество было увеличено. Гранулоцитарный росток более чем у половины человек – 8 (61,54%) был в норме, его угнетение зарегистрировано у 2 пациентов (15,38%), раздражение – у 3 (23,08%). Нормальное количество клеточных элементов мегакариоцитарного ростка отмечено в миелограммах у 7 пациентов (53,85%), снижение их количества – у 6 (46,15%) ($p = 0,002$, $p < 0,05$). У пациентов с уровнем вирусной нагрузки более 100 001 копий/мл снижение общей клеточности костного мозга отмечено при оценке 9 (52,94%) пунктов костного мозга, увеличение клеточности выявлено у 3 пациентов (17,65%), нормоклеточность – у 5 пациентов (29,41%). Угнетение эритроцитарного ростка имелось у 15 пациентов (88,24%), нормоцитарность – у 2 пациентов (11,76%), раздражение эритроцитарного ростка не определялось ни у одного пациента. Гранулоцитарный росток у 9 пациентов (52,94%) имел гипоклеточность, у 8 (47,06%) – нормоклеточность, гиперклеточность не зарегистрирована. Мегакариоцитарный росток, по данным миелограмм, был угнетен у 10 пациентов (58,82%), в норме у 7 пациентов (41,18%) ($p = 0,042$, $p < 0,05$). При сравнении по группам у пациентов с уровнем вирусной нагрузки выше 100 001 копий/мл достоверно чаще отмечалась гипоклеточность каждого из ростков кроветворения ($\chi^2 = 10,972$, $p = 0,002$; $\chi^2 = 16,121$, $p = 0,003$; $\chi^2 = 7,362$, $p = 0,053$), гиперклеточность в миелограммах пациентов данной группы не зарегистрирована. Но общая гиперклеточность костного мозга чаще регистрировалась у пациентов с вирусной нагрузкой выше 100 001 копий/мл ($\chi^2 = 5,974$, $p = 0,043$). Данные представлены в **таблице 2**.

Проводилась оценка признаков диспоза по данным цитологического исследования аспиратов костного мозга у пациентов с цитопениями и ВИЧ-инфекцией (**таблица 3**). В группе с вирусной нагрузкой менее 100 000 копий/мл голаядерные клетки обнаружены в миелограммах у 3 пациентов (23,08%), признаки дизэритро-, дизгрануло- и дизмегакариоцитопоза имели по 2 пациента (15,38%). Среди пациентов с уровнем вирусной нагрузки более 100 001 копий/мл у 2 человек (11,76%) зарегистрировано наличие голаядерных клеток среди мегакариоцитов, признаки дизэритропоза имелись у 2 пациентов (11,76%), дизгранулопоза – у 3 пациентов (17,65%), не имели признаков диспоза 10 пациентов (58,82%). При сравнении по группам изменения в мегакариоцитарном ростке (образование голаядерных клеток, дизмегакариоцитопоза) характерны для пациентов с уровнем вирусной нагрузки менее 10 000 копий/мл ($\chi^2 = 9,026$, $p = 0,032$; $\chi^2 = 4,836$, $p = 0,062$). Признаки дисплазии гранулоцитарного ростка чаще определяются у пациентов с

Признаки диспоза	Уровень вирусной нагрузки		Менее 100 000, копий/мл n=13		Более 100 001, копий/мл n=17		χ^2	p
	Абс.	%	Абс.	%				
Голоядерные клетки, n=5	3	23,08	2	11,76	9,026	0,032		
Дизэритропоэз, n=4	2	15,38	2	11,76	7,740	0,004		
Дизгранулопоэз, n=5	2	15,38	3	17,65	5,463	0,037		
Дизмегакариоцитопоэз, n=2	2	15,38	0	0	4,836	0,062		

Таблица 3. Сравнение наличия признаков диспоза в миелограммах у пациентов в зависимости от вирусной нагрузки

Table 3. Comparison of the signs of dyspoesis in myelograms in patients depending on the viral load

уровнем вирусной нагрузки более 100 001 копий/мл ($\chi^2 = 5,463$, $p = 0,037$).

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Существует утверждение о том, что гемопоэтические стволовые клетки, или CD34+ клетки-предшественницы, резистентны к инфицированию ВИЧ. Однако многие относящиеся к миелоидным предшественникам клетки могут быть инфицированы и становятся функционально неполноценными с заметным снижением роста колоний. Более того, нарушается микросреда костного мозга, необходимая для роста и развития нормальных клеток крови. Такие клетки, как Т-лимфоциты и макрофаги, составляющие это микроокружение (stroma), подвержены заражению ВИЧ-инфекцией, в результате снижается продукция различных гемопоэтических ростовых факторов, что способствует дальнейшим нарушениям роста клеток предшественниц. Все перечисленные факторы вместе с многочисленными дополнительными нарушениями в конечном итоге приводят к частому развитию цитопении [5–7]. При проведении анализа нами было доказано, что развитие панцитопении как более тяжелой формы цитопении чаще происходит у пациентов с уровнем вирусной нагрузки более 100 001 копий/мл.

Оценка миелодисплазии и клеточности костного мозга проводилась рядом исследователей с целью сравнения первичного миелодиспластического синдрома и изменений, возникающих при ВИЧ-инфекции. Так, S.A. Dhurve установлено, что гиперклеточность костного мозга на фоне периферических цитопений – очень частая находка при ВИЧ-инфекции, которая, скорее

всего, отражает миелоидную дисплазию и неэффективное кроветворение [9]. В нашем исследовании гиперклеточность установлена только в мазках костного мозга пациентов с уровнем вирусной нагрузки менее 10 000 клеток/мл.

Диспластические изменения, описанные для пациентов с ВИЧ-инфекцией, включают в себя наличие голоядерных форм мегакариоцитов и мегакариоциты с гипосегментированными или фрагментированными ядрами. Дизэритропоэз может проявляться мегалобластическими изменениями, появлением двухядерных и многоядерных форм, неправильными и фрагментированными ядрами, базофилией цитоплазмы. Созревание миелоидного ростка в целом сдвинуто влево. В миелодиспластические изменения в миелоидной линии включаются аномальный миелобласт с высоким содержанием ядер / цитоплазматическое соотношение и аномальные складчатые или расщепленные ядра, крупные миелоциты, метамиелоциты и полосы с мегалобластическими зародышами, а также «псевдопельгеризация», отражающие дисфункциональное ядерное созревание. Немногочисленные исследования показали, что дизгранулопоэз нарушается более часто и более выражено, чем другие виды диспоза [8, 9]. Мы установили, что голоядерные клетки и черты дизгранулоцитопоэза выявлялись у равного количества человек, но дизгранулоцитопоэз чаще определялся у пациентов с уровнем вирусной нагрузки более 100 001 клеток/мл, а голоядерные клетки – у пациентов с вирусной нагрузкой менее 100 000 клеток/мл.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у пациентов с ВИЧ-инфекцией уровень вирусной нагрузки оказывает влияние не только на течение основного заболевания, но и на изменения цитологического состава костного мозга. Цитопении, регистрируемые в гемограммах, связаны с гипоклеточностью в ростках кроветворения. Развитие миелодисплазии в гранулоцитарном ростке чаще связано с нарастанием уровня вирусной нагрузки, при этом мегакариоцитарный росток страдает при более низких значениях количества РНК ВИЧ. ■

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. WHO. Global Health Sector Strategies for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, Sexually Transmitted Infections (STIs). (In Russ.). [Всемирная организация здравоохранения. Женева Стратегии по борьбе с ИППП, ВИЧ и вирусным гепатитом]. URL: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA69/A69_31-ru.pdf?ua=1&ua=1
2. Zhu Q, Fang P, Zhao Y. How about the quality and recommendation on prevention, diagnosis, and treatment of HIV/AIDS guidelines developed by WHO. 2020;99(52):e23638. doi: 10.1097/MD.00000000000023638
3. Buskin SE, Sullivan PS. Anemia and its treatment and outcomes in persons infected with human immunodeficiency virus. *Transfusion*. 2004;44(6):826–832. doi: 10.1111/j.1537-2995.2004.03359.x
4. Marchionatti A, Parisi MM. Anemia and thrombocytopenia in people living with HIV/AIDS: a narrative literature review. *Int Health*. 2021;13(1):98–109. doi: 10.1093/inthealth/ihaa036
5. Bharuthram N, Feldman C. The diagnostic utility of bone marrow examination in an infectious disease ward. *South Afr J HIV Med*. 2019;20(1). doi: 10.4102/sajhivmed.v20i1.974
6. Bagnara GP, Zauli G, Giovannini M. Early loss of circulating hemopoietic progenitors in HIV-1-infected subjects. *Experimental hematology*. 1990;18(5):426–430.
7. Balea M. Hematologic manifestations of infection with the human immunodeficiency virus. *Romanian journal of internal medicine*. 1994;32(2):87–118.
8. Tripathi AK, Misra R, Kalra P. Bone marrow abnormalities in HIV disease. *The Journal of the Association of Physicians of India*. 2005;53:705–710.
9. Dhurve SA, Dhurve AS. Bone Marrow Abnormalities in HIV Disease. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*. 2013;5(1):e2013033. doi: 10.4084/MJHID.2013.033