

## BADANIA HISTOKLINICZNE INWAZYJNEJ ASPERGILOZY U CHOREJ PO RADIOCHEMIOTERAPII

### HISTOCLINICAL PARAMETERS OF INVASIVE ASPERGILLOSIS IN RADIOCHEMOTHERAPY TREATED PATIENT

Zygmunt Kozielec<sup>1,3</sup>, Beata Czeremczyńska-Respekta<sup>2</sup>, Marian Sulik<sup>1</sup>,  
Sergiusz Nawrocki<sup>2</sup>, Błażej Szóstak<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Katedra Patomorfologii, Wydział Nauk Medycznych, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

<sup>2</sup> Zakład i Oddział Radioterapii, ZOZ MSWiA z Warmińsko-Mazurskim Centrum Onkologii w Olsztynie

<sup>3</sup> Dział Patomorfologii Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego w Olsztynie

#### STRESZCZENIE

**Wstęp.** Grzyby to organizmy szeroko rozpowszechnione w naszym środowisku. Spośród grzybów chorobotwórczych, większość inwazyjnych zakażeń grzybiczych powodują grzyby z rodzaju *Aspergillus* należące do grzybów pleśniowych. Postać inwazyjną aspergilozy – najczęściej inwazyjną aspergilozę płuc – w większości przypadków wywołuje *Aspergillus fumigatus*.

**Cel pracy.** Celem pracy jest analiza histokliniczna inwazyjnej aspergilozy na przykładzie uogólnionej grzybicy kropidlakowej u chorej poddanej radiochemioterapii po operacyjnym leczeniu glioblastoma WHO grade IV.

**Materiał i metody.** 45-letnia chora po prawostronnej kraniotomii, z rozpoznaniem glioblastoma multiforme, poddana była radykalnej radiochemioterapii z temozolomidem. W trakcie leczenia obserwowano: leukopenię oraz trombocytopenię IV stopnia WHO, dyskretną skazę krwotoczną w obrębie skóry i błon śluzowych oraz pojedynczy epizod wzrostu temperatury do 37,4°C. W 45. dniu stan pacjentki gwałtownie pogorszył się. W ciągu kilkunastu godzin chora zmarła wśród objawów szybko postępującej niewydolności oddechowej. Wykonane badanie autopsyjne i badanie histopatologiczne wycinków potwierdziło postać inwazyjną aspergilozy.

**Omówienie.** Najbardziej zaawansowane zmiany obserwowano w płucach – wyka-

zано obecność *Aspergillus fumigatus*, zmian martwiczo-krwotocznych oraz odczynu zapalnego o różnym stopniu nasilenia.

**Wnioski.** Ze względu na szeroki wachlarz schorzeń i stanów klinicznych, w przebiegu których może dojść do zakażenia, a w szczególności gdy dotyczą one chorych w przebiegu immunosupresji, inwazyjna postać aspergilozy ciągle stanowi istotny problem tak diagnostyczny, jak i leczniczy. Wszyscy pacjenci z przedłużającą się neutropenią i przewlekłe leczeni steroidami powinni być traktowani jako grupa ryzyka. Ze względu na często niecharakterystyczny lub wręcz niemy w początkowym okresie przebieg choroby, najmniejszy objaw ze strony układu oddechowego nawet przy braku potwierdzenia infekcji w badaniach laboratoryjnych i obrazowych (radiologicznych), czy przy niepełnej symptomatologii w obrazach TK należy traktować jak zwiastujący infekcję grzybiczą.

### ABSTRACT

**Introduction.** Fungi are organisms that are widespread in our environment. The majority of invasive fungal infections are caused by *Aspergillus* genus, which belongs to mould fungi. An invasive form of aspergillosis, most commonly – invasive pulmonary aspergillosis, in the majority of cases is caused by *Aspergillus fumigatus*.

**Aim.** The object of this paper is a histoclinical analysis of invasive aspergillosis on the basis of generalized aspergillosis in a patient after a surgical treatment for glioblastoma, WHO grade IV, followed by radiochemotherapy.

**Materials and methods.** A 45-years old female after right-side craniotomy, diagnosed with glioblastoma multiforme, was treated with radiochemotherapy with temozolomide. Leucopenia, thrombocytopenia of WHO grade IV, discrete hemorrhagic condition of the skin and mucous membranes and a single episode of body temperature elevation to 37.4°C were observed during the treatment. On the 45<sup>th</sup> day the clinical condition of the patient exacerbated. Within several hours the patient manifested severe, rapidly growing respiratory insufficiency and died. Autopsy and histopathologic examination of the tissue specimen confirmed an invasive form of aspergillosis.

**Discussion.** The most advanced pathologic changes were found in the lung specimen, where the presence of *Aspergillus fumigatus*, necrotic and hemorrhagic changes and an inflammatory reaction of a varied severity were revealed.

**Conclusions.** Because there are many diseases and clinical situations, which predispose to infection, especially in the case of immunosuppressed patients, invasive aspergillosis is still a major diagnostic and therapeutic problem. All patients with prolonged neutropenia, chronically treated with steroids, should be rated as a high risk group. On account of an often untypical or asymptomatic course of the disease in the initial period, any discrete respiratory manifestation should be treated as

a prodrome of the fungal infection, even when infection is not confirmed by laboratory tests and radiologic images, or the symptoms are incomplete in CT images.

**Słowa kluczowe:** aspergiloza inwazyjna.

**Key words:** invasive aspergillosis.

## WSTĘP

Grzyby to organizmy szeroko rozpowszechnione w naszym środowisku. Niewielki ich odsetek stanowią grzyby chorobotwórcze, w tym grzyby pleśniowe odpowiedzialne za inwazyjne zakażenia grzybicze. Większość tego rodzaju zakażeń powodują grzyby z rodzaju *Aspergillus*, z których ok. 10% jest patogennych dla człowieka. Postać inwazyjną aspergilozy – najczęściej inwazyjną aspergilozę płuc – w większości przypadków wywołuje *Aspergillus fumigatus*, szeroko rozpowszechniony w przyrodzie (występuje m.in. w glebie, w rozkładającej się żywności), rzadziej *Aspergillus nidulans*, *terreus*, *niger*, *flavus*, *usteus* i inne [9, 17, 21, 26].

Spśród postaci aspergilozy wywołanej przez *Aspergillus fumigatus*: inwazyjna (część autorów [10] wyróżnia dodatkowo postać półinwazyjną), alergiczna (oskrzelowo-płucna) i grzybniak kropidlakowy [12, 33] – postać inwazyjna, ze względu na szeroki wachlarz schorzeń i stanów klinicznych, w przebiegu których może dojść do zakażenia ciągle stanowią istotny problem tak diagnostyczny, jak i leczniczy.

## CEL PRACY

Celem pracy jest analiza histokliniczna inwazyjnej aspergilozy na przykładzie uogólnionej grzybicy kropidlakowej u chorej poddanej radiochemioterapii po operacyjnym leczeniu glioblastoma WHO grade IV.

## OPIS PRZYPADKU I WYNIKI BADAŃ

45-letnia chora po kraniotomii prawostronnej, z rozpoznaniem *glioblastoma multiforme*, w stanie ogólnym dobrym (WHO-0), bez ubytków neurologicznych i bez schorzeń współistniejących, zakwalifikowana została do radykalnej radiochemioterapii z temozolomidem [31].

W trakcie leczenia obserwowano: leukopenię oraz trombocytopenię IV stopnia WHO, dyskretną skazę krwotoczną w obrębie skóry i błon śluzowych oraz pojedynczy epizod wzrostu temperatury do 37,4°C.

W leczeniu wspomagającym stosowano dexametazon, neupogen, koncentrat płytek krwi, augmentin, flukonazol.

Leczenie przerwano w 31. dniu od rozpoczęcia radiochemioterapii po dawce 41,4 Gy. W 45. dniu stan pacjentki gwałtownie się pogorszył.

Badanie TK klatki piersiowej wykazało rozległy, lity naciek w segmencie trzeciego płata górnego płuca lewego, nieregularne strefy nacieków w mięszu obu płuc pod postacią obwodowych guzków różnej wielkości, mnogie znacznie powiększone węzły chłonne w śródpiersiu i wnękach płucnych. Nie wykazano cech zatorowości płucnej.

W ciągu kilkunastu godzin chora zmarła wśród objawów szybko postępującej niewydolności oddechowej.

## OMÓWIENIE I Dyskusja

Postęp medycyny coraz częściej wymaga użycia agresywnych metod leczenia, które sprawiają, że rośnie liczba stanów klinicznych predysponujących do zakażeń grzybiczych.

Zdecydowana większość doniesień i przytaczanych w piśmiennictwie przypadków klinicznych inwazyjnej aspergilozy wiąże się z leczeniem prowadzącym do immunosupresji [1, 2, 4, 17, 22, 30, 34, 35]. Z drugiej strony, steroidy, cytostatyki czy radioterapia, to leki i postępowanie z wyboru u pacjentów onkologicznych, po przeszczepach narządów (szczególnie szpiku) i wszczępieniu różnego rodzaju protez, przy schorzeniach hematologicznych, nabytych i wrodzonych niedoborach odporności itd.

Wszyscy ci pacjenci z przedłużającą się neutropenią i leczeni steroidami powinni być traktowani jako grupa ryzyka. Według Robson G.D. *et al.* [29], stosowanie steroidów ma wręcz pobudzający wpływ na wzrost i patogenność grzyba ze względu na możliwość obecności na komórkach *Aspergillus* receptora dla glikokortykosteroidów. W przypadku przytaczanym przez nas chora poddana była radioterapii z temozolomidem.

W trakcie leczenia temozolomidem obserwuje się u chorych limfopenię [28]. Zjawisko to szczególnie nasilone jest w subpopulacji limfocytów CD4+, w mniejszym stopniu CD8+ T oraz limfocytów B, co sprzyja rozwojowi infekcji oportunistycznych. Pogorszenie się stanu ogólnego pacjentki nastąpiło nagle, a wcześniejszy epizod wzrostu temperatury poza brakiem innych objawów nie wskazywał na istnienie aktywnego procesu zapalnego.

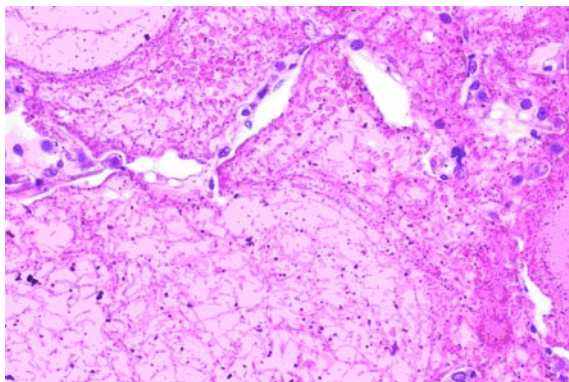
Diagnostykę i wczesne podjęcie leczenia dodatkowo utrudniać może niecharakterystyczny lub wręcz niemy w początkowym okresie przebieg choroby.

Do zakażenia *Aspergillus fumigatus* najczęściej dochodzi drogą oddechową. Od samego początku dla grzyba nie ma barier anatomicznych i w postaci inwazyjnej choroby jego rozwój postępuje bardzo szybko. Ze względu na niewielkie rozmiary (2–3 μm) zarodniki łatwo aspirują się z wdychanym powietrzem i w odpowiednich warunkach *Aspergillus* szybko szerzy się (ok. 1–2 mm/godz.) [21, 24], zaś zakażenie przyjmuje postać inwazyjną charakteryzującą się inwazją naczyń, może przerastać przez ciągłość opłucną, wrastać do jamy opłucnowej, w mięśnie międzyżebrowe i osierdzie, a u części chorych może dochodzić do rozsiewu grzyba do innych narządów [20, 23, 27, 32].

W przytoczonym przypadku, po nagłym załamaniu się stanu ogólnego chorej, wykonane badanie TK klatki piersiowej wykazało lity naciek w segmencie trzeciego płata górnego płuca lewego oraz nieregularne strefy nacieków w mięszu obu

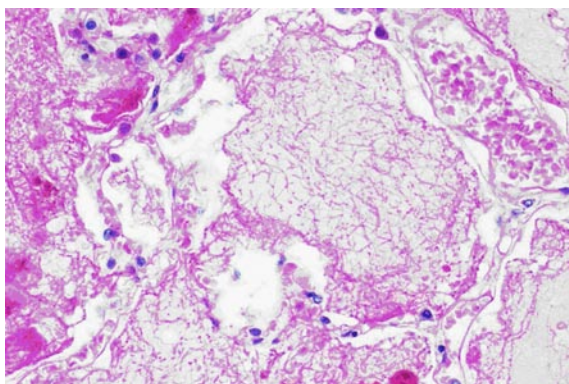
płuc pod postacią obwodowych guzków różnej wielkości. Właśnie tak opisywane zmiany – nacieki guzkowe z lub bez objawu „halo” (*halo sign*), objaw powietrznego półksiężyca (*air-crescent sign*) oraz zmiany klinowe z podstawą przy opłucnej (*wedge-shaped*), są charakterystyczne dla inwazyjnej grzybicy płuc wywołanej przez grzyby pleśniowe wykazujące angioinwazyjność [6, 12, 13, 14, 15, 16, 19].

W czasie sekcji i w badaniach histopatologicznych wycinków najbardziej zaawansowane zmiany obserwowano w płucach. W wycinkach z płuc wykazano obecność *Aspergillus fumigatus* (Ryc. 1–2), zmian martwiczo-krwotocznych (zmian krwotocznych, zakrzepowych, zawałów i zmian martwiczych) (Ryc. 3–4) oraz obecność odczynu zapalnego o różnym stopniu nasilenia. W inwazyjnej postaci aspergilozy płucnej, agresywna angioinwazja z uszkodzeniem kolejnych warstw ściany naczynia, a w konsekwencji zmiany krwotoczne i zakrzepowe powstają głównie w związku z produkowaną przez kropidlaka elastazą i innymi enzymami degradującymi elasty-



Ryc. 1. Płuco – grzybnia kropidlaka (HE 200×).

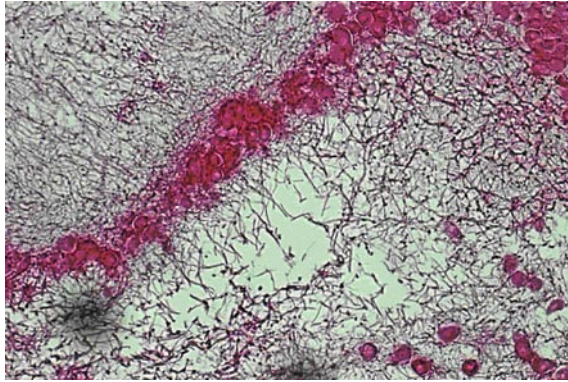
Fig. 1. Lung – moulds of *Aspergillus fumigatus* (HE 200×).



Ryc. 2. Płuco – grzybnia kropidlaka (HE 200×)

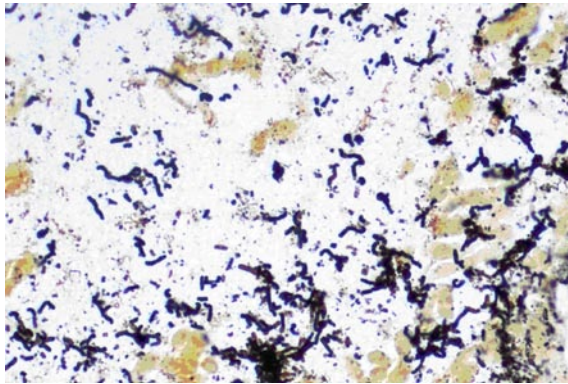
Fig. 2. Lung – moulds of *Aspergillus fumigatus* (HE 200×)





Ryc. 3. Płuco – grzybnia kropidlaka (HE 200×)

Fig. 3. Lung – moulds of *Aspergillus fumigatus* (HE 200×)

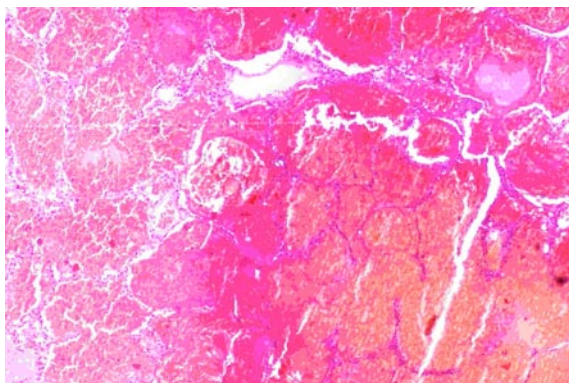


Ryc. 4. Płuco – grzybnia kropidlaka (Warthin-Starry stain 400×)

Fig. 4. Lung – moulds of *Aspergillus fumigatus* (Warthin-Starry stain 400×)

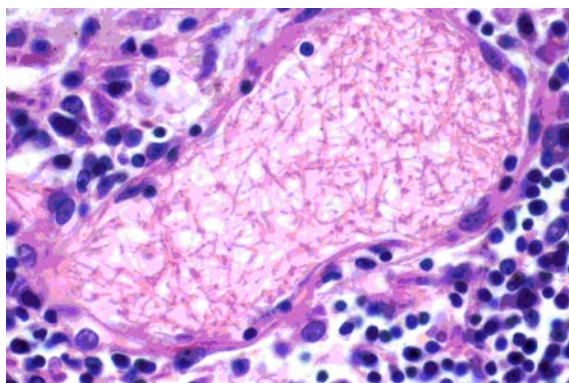
nę i kolagen, poprzez aktywację cytokin prozapalnych (zwiększają adhezję komórek do śródbłonna naczyń) i poprzez fibronektynę [5, 8, 11]. Za pozostałe objawy związane z aspergillozą odpowiedzialny jest szereg innych substancji (toksyn) syntetyzowanych przez *Aspergillus fumigatus* m.in.: aflatoksyny (działają toksycznie bezpośrednio na komórki układu immunologicznego [2, 25], gliotoksyny, restriktocyna i mitogillina (które hamują syntezę białek w komórce, i biorą udział w reakcjach alergicznych indukując IgE) [24].

Z zajęciem naczyń wiąże się rozsiew kropidlaka drogą krwionośną. Poza płucami, gdzie infekcja miała charakter rozlany, nitki grzyba stwierdzono w świetle naczyń krwionośnych w preparacie z węzła chłonnego śródpiersia (Ryc. 5), oraz w badanych wycinkach pobranych z opon mózgowo-rdzeniowych i z okolicy łoży pooperacyjnej (Ryc. 6). W wycinkach z opon mózgowo-rdzeniowych wykazano również rozległe



Ryc. 5. Płuco – zmiany martwicze, zawały, zmiany krwotoczne, zakrzepowe i odczyn zapalny o różnym stopniu nasilenia (HE 200×)

Fig. 5. Necrotic, hemorrhagic and thrombotic lesions, infarctions and inflammatory reaction in the lung (HE 200×)



Ryc. 6. Węzeł chłonny – grzybnia kropidlaka w świetle naczynia krwionośnego (HE 400×)

Fig. 6. Lymph node – moulds of *Aspergillus fumigatus* in blood vessel's lumen (HE 400×)

zmiany martwiczo-krwotoczne. Nie potwierdzono obecności kropidlaka w wycinkach z mięśnia sercowego i w wycinkach z nerek – można również podejrzewać, że sprawca zmian obserwowanych w tych narządach to *Aspergillus fumigatus*. Zmiany w sercu przedstawiały obraz ostrego zapalenia mięśnia sercowego, zaś w nerkach, zwłaszcza w części rdzennej, obserwowaliśmy zmiany krwotoczne (wylewy wokół naczyń i do światła kanalików).

Ze względu na trudności diagnostyczne [7] lub atypowy przebieg infekcji aż do 78% przypadków grzybicy kropidlakowej rozpoznawanych jest *post mortem*, a pewnym i ostatecznym rozpoznaniem za życia pacjenta może być jedynie badanie patomorfologiczne pobranego śródoperacyjnie wycinka z płuc lub biopsja przezskórna płuc [3, 18].

## WNIOSKI

1. Zakażenia grzybicze, a zwłaszcza inwazyjne zakażenia grzybicze u chorych w przebiegu immunosupresji, to istotny problem diagnostyczny i leczniczy.
2. Wszyscy pacjenci z przedłużającą się neutropenią i przewlekłe leczeni steroidami powinni być traktowani jako grupa ryzyka.
3. Ze względu na często niecharakterystyczny lub wręcz niemy w początkowym okresie przebieg choroby, najmniejszy objaw ze strony układu oddechowego nawet przy braku potwierdzenia infekcji w badaniach laboratoryjnych i obrazowych (radiologicznych) czy przy niepełnej symptomatologii w obrazach TK należy traktować jak zwiastujący infekcję grzybiczą.
4. Ocena patomorfologiczna pobranego śródoperacyjnie wycinka lub biopsja przezskórna płuc pozwala na postawienie ostatecznego rozpoznania.

## PIŚMIENNICTWO

1. Ascigliu S. *et al.*: *Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus*. Clin. Infect. Dis., 2002; 34: 7–14.
2. Bergh V., Verweij P.E., Voss A.: *Epidemiology of nosocomial fungal infections: invasive aspergillosis and the environment*. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 1999; 34: 221–227.
3. Caillot D., Casanovas O., Bernard A. *et al.*: *Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan and surgery*. J. Clin. Oncol., 1997; 15: 139–147.
4. Caillot D., Mannone L., Cuisenier B., Couaillier J-F.: *Role of early diagnosis and aggressive surgery in the management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients*. Clin. Microbiol. Infect., 2001; 7 (2): 54–61.
5. Chen J.K., Lin J.L., Huang C.C. *et al.*: *Mycotic aneurysm presenting as acute pyelonephritis*. Ren. Fail., 2002; 24: 677–682.
6. Curtis A.M., Smith G.J., Ravin C.E.: *Air crescent sign of invasive aspergillosis*. Radiology, 1979; 133: 17–21.
7. Diskin C.J., Stokes T.J., Dansby L.M. *et al.*: *Observe and be guarded: the development and rupture of an abdominal aortic mycotic aneurysm in an afebrile hemodialysis patient with normal angiogram, and CT scan, and sterile blood cultures*. Clin. Exp. Nephrol., 2004; 8: 388–391.
8. Fernandez B.M.R., Oruezabal M.M.J.: *Mycotic aneurysm in aortic arch by Aspergillus fumigatus: contribution of a case and review of the literature*. Ann. Med. Interna, 2005; 22: 437–440.
9. Franquet T., Müller N.L., Giménez A. *et al.*: *Spectrum of Pulmonary Aspergillosis: Histologic, Clinical, and Radiologic Findings*. Radiographics, 2001; 21: 825–837.
10. Franquet T., Muller N.L., Gimenez A. *et al.*: *Semiinvasive pulmonary aspergillosis in chronic obstructive pulmonary disease: radiologic and pathologic findings in nine patients*. AJR, 2000; 174: 51–56.
11. Froeschl M., Wolfsohn A., Beauchesne L.M.: *Ruptured mycotic pseudoaneurysm of the thoracic aorta*. Cardiovasc. Pathol., 2006; 15: 116–118.
12. Gotway M.B., Dawn S.K., Caoili E.M. *et al.*: *The Radiologic Spectrum of Pulmonary Aspergillus Infections*. J. Comput. Assist. Tomogr., 2002; 26(2): 159–173.
13. Greene R.E. *et al.*: *Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign*. Clin. Infect Dis., 2007, 44: 373–379.
14. Hauggaard A., Ellis M., Ekelund L.: *Early chest radiography and CT in the diagnosis, management and outcome of invasive pulmonary aspergillosis*. Acta Radiol., 2002; 43(3): 292–298.



15. Hruban R.H., Meziane M.A. Zerhouni E.A. *et al.*: Radiologicpathologic correlation of the CT halo sign in invasive pulmonary aspergillosis. J. Comput. Assist. Tomogr., 1987; 11: 534–536.
16. Kami M., Kishi Y., Hamaki T. *et al.*: The value of the chest computed tomography halo sign in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. An auto-based retrospective study of 48 patients. Mycoses, 2002; 45(8): 287–294.
17. Kang E-Y., Kim D.H., Woo O.H., *et al.*: Pulmonary Aspergillosis in Immunocompetent Hosts Without Underlying Lesions of the Lung: Radiologic and Pathologic Findings. A.J.R., 2002; 178: 1395–1399.
18. Kim K., Lee M.H., Kim J. *et al.*: Importance of open lung biopsy in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic malignancies. Am. J. Hematol., 2002; 71(2): 75–79.
19. Kim Y., Lee K.S., Jung K.J., *et al.*: Halo sign of high resolution CT findings in spectrum of pulm diseases with pathologic correlation. J. Comput. Assist. Tomogr., 1999; 23(4): 622–666.
20. Koral K., Hall T.R.: Mycotic pseudoaneurysm of the aortic arch: an unusual complication of invasive pulmonary aspergillosis. Clin. Imaging, 2000; 24: 279–282.
21. Latgé J.P. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. Clin. Microbiol. Rev., 1999; 12: 310–350.
22. Lin S.J. *et al.*: Aspergillosis case – fatality rate: systematic review of the literature. Clin. Infect. Dis. 2001; 32: 358–366.
23. Nenoff P., Kellermann S., Horn L.C. *et al.*: Case report. Mycotic arthritis due to *Aspergillus fumigatus* in a diabetic with retrobulbar aspergillosis and mycotic meningitis. Mycoses, 2001; 44: 407–414.
24. Nowicka J.: Zakażenia grzybicze w immunosupresji. Pol. Arch. Med. Wewn., 2002; 5: 443–451.
25. Nowicka J., Mazur G., Mędraś E. *et al.*: Aspergilloza jako powikłanie chorób hematologicznych. Mikol. Lek., 1999; 6: 47–56.
26. Pagano L. *et al.*: The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM – 2004 study. Haematologica, 2006; 91: 1068–1075.
27. Palanichamy N., Gregoric I.D., La Francesca S., Smart F.W.: Mycotic pseudoaneurysm of the ascending thoracic aorta after cardiac transplantation. J. Heart Lung Transplant., 2006; 25: 730–733.
28. Richardson M.D., Jones B.L.: *Therapeutic Guidelines in Systemic Fungal Infections*; 3<sup>rd</sup> ed., Current Medical Literature Books 2004; London Remedica Publishing Ltd.
29. Robson G.D., Denning D.W.: Hydrocortisone-enhanced growth of *Aspergillus spp.*: implications for pathogenesis., Microbiology 1994; 140: 2475–2479.
30. Silva M.E., Malogolowkin M.H., Hall T.R. *et al.*: Mycotic aneurysm of the thoracic aorta due to *Aspergillus terreus*: case report and review. Clin. Infect. Dis. 2000; 31: 1144–1148.
31. Stupp R. *et al.*: Radiotherapy plus concomitant and adjuvant Temozolomide for glioblastoma. N. Engl. J. Med., 2005; 352: 987–996.
32. Stevens A.D., Kan V.L., Judson M.A. *et al.*: Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. Clin. Infect. Dis., 2000; 30: 696–709.
33. Susan J. *et al.*: *Aspergillus* in the lung: diverse and coincident forms. Eur. Radiol., 2003; 13(8): 1786–1800.
34. Thompson B.H., Stanford W., Galvin J.R. *et al.*: Varied radiologic appearances of pulmonary aspergillosis. Radiographic, 1995; 15: 1272–1284.
35. Wiederhold N.P., Lewis R.E., Kontoyiannis D.P.: Invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies. Pharmacotherapy, 2003; 23: 1592–1610.