

ХЕПАТОСПЛЕНИЧНА КАНДИДИЈАЗА КОД БОЛЕСНИКА С АКУТНОМ ЛЕУКЕМИЈОМ

Зоран РАЈИЋ¹, Наташа ЧОЛОВИЋ¹, Мирјана СРЕТЕНОВИЋ¹, Мира ПЛЕЧИЋ²,
Снежана ЈАНКОВИЋ¹, Милена БАКРАЧ¹, Милица ЧОЛОВИЋ¹

¹Институт за хематологију, Клинички центар Србије, Београд;

²Одељење хематологије, Здравствени центар, Ваљево

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Хепатоспленична кандидијаза је дисеминована инвазивна гљивична инфекција која се спорадично јавља и код болесника с акутним леукемијом. Болест се испољава високом телесном температуром, која се одржава и после опоравка од аплазије костне сржи код болесника који су недавно примили хемиотерапију.

Прикази болесника Аутори приказују три болесника (две жене и мушкарца) старости 23, 26 и 33 године с акутним леукемијом (једна акутна мијелобластна и две акутне лимфобластне леукемије) код којих се развила хепатоспленична кандидијаза. Дијагноза је постављена на основу упорне високе фебрилности, повишених вредности билирубина и алкалне фосфатазе, као и типичних лезија уочених на снимку компјутеризоване томографије и нуклеарне магнетне резонанције и ултрасонограму абдомена, а код једне болеснице и на основу налаза хемокултуре, из које је изолована *Candida albicans*. Сви болесници су лечени антимицитицима. Лечење једног болесника је било успешно, док су два болесника преминула услед погоршања леукемије.

Закључак Када се код болесника с леукемијом у ремисији јави фебрилност нејасног порекла, треба помислити на хепатоспленичну кандидијазу и настојати да се она докаже. Дијагноза се заснива на клиничкој презентацији и налазима примене имџинг-техника. Позитиван налаз културе гљивица обично није могућ и није неопходан за предузимање антигљивичне терапије, која се примењује два-три месеца, па чак и дуже.

Кључне речи: јетра; слезина; кандидијаза

УВОД

Учесталост гљивичних инфекција се код хематолошких болесника стално повећава. Оне се јављају као локализована или дисеминована обољења. Кандидијаза може бити изазвана разним сојевима рода кандидида (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* и др.). Дисеминована кандидијаза се јавља као акутна или хронична инфекција. Кандидијаза ретко захвата јетру и слезину, и тада се назива хепатоспленична кандидијаза. Фактори ризика за развој хепатоспленичне кандидијазе су: продужен период неутропеније (број леукоцита мањи од $0,5 \times 10^9/l$), дуготрајно лечење кортикостероидима, алогена трансплантација матичних ћелија хематопоезе, болест калема против домаћина, разна друга имунодефицијентна стања и уградња централних венских катетера [1-5]. Дијагнозу болести отежава то што налаз хемокултуре често остаје негативан и што се биопсијом јетре ретко могу доказати гљивице или псеудохифе. Срећом, налази компјутеризоване томографије (СТ), нуклеарне магнетне резонанције (NMR) и ултразвука су типични и јасно указују на ово обољење [4-7].

ПРИКАЗ ПРВОГ БОЛЕСНИКА

Болесница стара 23 године се разболела јануара 2004. године, а болест се испољавала малаксалошћу, високом телесном температуром и увећаном субмандибуларном лимфном жлездом. Лечењем амоксици-

лином симптоми су се повукли, да би се већ крајем фебруара поново јавиле малаксалост и телесна температура до 39°C . На крвној слици уочена је леукоцитоза, док су у диференцијалној леукоцитној формули утврђене младе форме, те је болесница под сумњом да болује од акутне леукемије примљена крајем марта 2004. године на болничко лечење у Институту за хематологију Клиничког центра Србије у Београду. На пријему су забележени бледило коже и видљивих слузница. Периферне лимфаденопатије није било, као ни хепатоспленомегалије. Налаз срца и плућа је био нормалан. Ниво хемоглобина је био 97 g/l , леукоцита $17 \times 10^9/l$, тромбоцита $29 \times 10^9/l$; диференцијална леукоцитна формула: 74% мијелобласта, 3% мијелоцита, 1% штапастих, 9% сегментованих, 11% лимфоцита и 1% моноцита; СЕ 150 mm/h . У биохемизму су нађене повишене трансминазе (СГОТ 55 U/l , СГПТ 59 U/l и лактичка дехидрогеназа 3421 U/l). Укупни протеини били су 61 g/l . Цитолошким прегледом аспирана костне сржи утврђена је хиперцелуларност са 74% бласта мијелоидног изгледа, који су имали овално или угнуто једно, тако да је налаз одговарао акутној мијелобластној леукемији (АМЛ) М2. Имунофенотипизацијом мононуклеарних ћелија костне сржи забележен је следећи мембрански имунофенотип: (*HLA-DR*, *CD117*, *CD33*, *CD13*, *CD15*, *CD64*)⁺. Налаз *CD14*, *CD34* и осталих В и Т лимфоидних антигена био је негативан. Овај налаз је био у складу с цитолошким налазом и дијагнозом АМЛ-М2. Цитогенетска анализа је указала на патолошки клон са губитком полног X хромозома, транслокацијом 8 и 21 и деле-

цијом дугог крака хромозома 9 у 14 од 20 анализираних митоза (45, X, -X, t(8;21)(q22;q22), del(9)(q22) (14), /46, XX(6)). Радиограм плућа и ултрасонограм абдомена били су нормални.

Болесници је дат први циклус хемиотерапије по ADE протоколу AML-MRC12 у следећим дозама: адрибластин 60 mg првог, трећег и петог дана *i.v.*, цитосар 2×140 mg *i.v.* у болусу од првог до осмог дана и вепесид 140 mg од првог до петог дана у *i.v.* инфузији која је трајала један сат. Прегледом костне сржи после аплазије и опоравка утврђено је да је постигнута потпуна ремисија.

Током маја 2004. године болесница је примила и другу куру цитостатика по истом протоколу. После аплазије појавила се фебрилност, која је трајала око две недеље. Уз примену антибиотика и антимикотика флуконазола фебрилност се смирила. Међутим, већ недељу дана од отпуста телесна температура болеснице се поново повећала (до 40°C), а болесница је била бледа и са слабом прокрвљеношћу видљивих слузница. Није било хеморагијског синдрома, а јетра и слезина се нису палпирале. Радиограм плућа је био нормалан. Резултати лабораторијске анализе били су: хемоглобин 69 g/l, леукоцити $5,1 \times 10^9/l$, тромбоцити $86 \times 10^9/l$, укупни протеини 68 g/l, CPK 32 mg/l, ALT 42 U/l, AST 47 U/l, LDH 595 U/l. На ултрасонограму абдомена јетра је била хомогена, сагиталног промера од 135 mm, а слезина димензија 135×60 mm. Налаз СТ је показао да у јетри и слезини постоје многобројне хиподензне промене пречника до 10 mm, које су се појединачно постконтрастно рубно пребојавале, а по изгледу одговарале микроапсцесима гљивичног порекла (Слика 1). Хемокултуром је изолована *Candida albicans*. Болесница је лечена флуконазолом у дневној дози од 200 mg *i.v.*, а затим амфотерицином Б у дози од 0,1 mg/kg телесне тежине у *i.v.* инфузији у трајању од осам сати. Терапија је довела до постепеног смањења телесне температуре.

Контролни налаз NMR после месец дана показао је да су јетра и слезина биле нешто увећане, нехомогене



СЛИКА 1. СТ снимак абдомена показује многе хиподензне лезије у паренхиму јетре и слезине пречника до 15 mm.

FIGURE 1. CT showing a number of hypodense lesions within the liver and spleen up to 15 mm in diameter.

структуре и са вишеструким нодуларним променама пречника до 10 mm, с благим перифокалним отоком. Оне су биле појачаног интензитета сигнала у T2w и T2wFS и благо хиподензне у T1w, што је говорило у прилог постојању хепатоспленомегалије и мултиплих фокалних промена, тј. апсцеса. Зато је настављено лечење амфотерицином Б. Болесница је ускоро постала афебрилна. После месец дана лечења урађена је лапароскопија, на којој је јетра била нормалног изгледа и без фокалних промена, а биопсија је показала нормално ткиво јетре. Болесница је примила две додатне консолидационе терапије за АМЛ. Три и по године од постављања дијагнозе болесница је у ремисији.

ПРИКАЗ ДРУГОГ БОЛЕСНИКА

Болесница стара 26 година разболела се почетком 2004. године, а болест се испољавала малаксалошћу, увећањем жлезда на врату и крварењем по кожи. Марта 2004. године утврђени су генерализована лимфаденопатија, петехијално крварење по кожи и хепатоспленомегалија. Резултати лабораторијске анализе били су: хемоглобин 101 g/l, леукоцити $102 \times 10^9/l$ (91% бласта у диференцијалној формули), тромбоцити $32 \times 10^9/l$. Цитолошким прегледом костне сржи утврђена је хиперцелуларност са 86% бласта који су били негативни на POX, Sudan и PAS, па је постављена дијагноза акутне лимфобластне леукемије (АЛЛ). Налаз у ликвору је био нормалан. Цитогенетским прегледом ћелија костне сржи (у свим анализираним ћелијама) утврђена је псеудохипердиплоидија са два филаделфијска хромозома: 59, XX, der(2), +4, +5, +8, +9, t(9;22)(q34;q11), +12, +13, +14, +15, +17, +21, +22, der(22), t(9;22) [19], /46, XX [1]. RT-PCR анализа показала је постојање гена *bcr-abl*. Имунофенотипизацијом мононуклеарних ћелија периферне крви откривен је имунофенотип (CD34, HLA-DR, CD19, CD22, CD20, CD10, CD33, CD13)+, на основу чега је постављена дијагноза Б-акутне лимфобластне леукемије (Б-АЛЛ). Лечење је започето по протоколу ЛА-ЛА 94. Током примене индукционе терапије с адрибластином у дози од 50 mg *i.v.* од првог до трећег дана, ендоксаном од 1400 mg првог дана, онковином од 2 mg *i.v.* првог дана и кортикостероидима у дози од 120 mg *per os* од првог до двадесетог дана код болеснице се развила аплазија костне сржи с високом температуром, која се одржавала и после периода аплазије, због које је лечење настављено амикацином и вориконазолом. Контролним прегледом костне сржи после опоравка и нормализовања налаза периферне крви, уз нормалну целуларност забележено је постојање 10% резидуалних бласта.

Крајем маја и почетком јуна исте године болесница је испитивана у болници Kings College у Лондону због планиране алогене трансплантације костне сржи од несродног даваоца. С обзиром на то да су се спленомегалија и фебрилност одржавале, урађена су СТ

и *NMR* снимања, на којима су уочене фокалне промене у јетри и слезини које су одговарале слици хепатоспленичне кандидијазе. Патохистолошким прегледом биоптата из лезија у јетри дијагностиковане су промене које су одговарале апсцесу, састављеном од лимфоцита, плазмоцита, неутрофила и хистиоцита. Иако псеудохифе нису забележене, закључено је да су испуњени критеријуми за клиничку и радиолошку слику дисеминоване хепатоспленичне кандидијазе. Настављено је лечење липосомалним амфотерицином Б у дози од 3 mg/kg i.v. дневно. Уз цитостатике, антимиотична терапија настављена је током шест месеци, али је гљивична инфекција и даље била заступљена. Због рецидива болести, болесница је преминула 12 месеци од постављања дијагнозе.

ПРИКАЗ ТРЕЋЕГ БОЛЕСНИКА

Болесник стар 33 године разболео се фебруара 2005. године, а болест се манифестовала малаксалошћу, повишеном телесном температуром и искашљавањем крвавог испљувка. Прегледом је установљено бледило коже. Резултати лабораторијске анализе су показали следеће: хемоглобин 104 g/l , леукоцити $88 \times 10^9/l$, тромбоцити $14 \times 10^9/l$, у леукоцитној формули било је 90% бласта и 10% лимфоцита. Налази функционалних проба јетре и бубрега били су нормални. *LDH* 2020 U/l . Цитолошким прегледом костне сржи установљена је хиперцелуларност са 94% лимфобласта, који су били негативни на цитохемијска бојења *PAS*, мијелопероксидазу и *Sudan*. Према класификацији *FAB*, налаз је одговарао АЛЛ-Л2. Због недостатка ћелија у митози, цитогенетска анализа није успела. Имунофенотипизацијом моноклеарних ћелија пореклом из костне сржи откривен је клон ћелија које су биле (*HLA-DR*, *CD34*, *CD19*, *CD10*, *CD22*, *CD13*)⁺. Овакв имунофенотип је одговарао Б-прекурзору АЛЛ и *CD13*⁺. Започето је лечење цитостатикима по протоколу ЛАЛА 94 (адрибластин 50 mg од првог до трећег дана, ендоксан 1400 mg првог дана, онковин 2 mg првог дана, преднизон 100 mg per os од првог до петнаестог дана).

Већ током индукционог лечења болесник је постао високофебрилан и појавиле су се везикуле које су се развиле у крусте по кожи целог тела. Утврђено је да је у питању генерализована инфекција с *Varicella zoster*, па је примена цитостатске терапије обустављена, а започета антивирусна терапија. И поред санирања вирусне инфекције, болесник је и даље био фебрилан, а одржавала се и хепатоспленомегалија. Резултати лабораторијске анализе били су: хемоглобин 87 g/l , леукоцити $17,2 \times 10^9/l$ с нормалном леукоцитном формулом (77% сегментираних ћелија, 20% лимфоцита, 3% моноцита), тромбоцити $300 \times 10^9/l$; алкална фосфатаза 334 U/l , СГОТ 32 U/l , СГПТ 60 U/l . На ултрасонографском прегледу јетра је била 16 cm , а слезина $20 \times 8 \text{ cm}$, обе хомогене, али с фокалним хиперехогеним проме-



СЛИКА 2. Ултрасонограм приказује бројне хиперехогене промене у јетри.

FIGURE 2. Ultrasonography showing a number of focal hyperechoic lesions in the liver.

нама (Слика 2), док су на *CT* снимку уочене дифузне хиподензне промене пречника $5\text{--}28 \text{ mm}$. У спутуму је изолована *Candida albicans*. На основу високе фебрилности, патолошког хепатограма и ултразвучног и *CT* налаза јетре и слезине, закључено је да пацијент болује од хепатоспленичне кандидијазе, те је започето лечење амфотерицином Б.

Због погоршања општег стања и слабог одговора на амфотерицин Б, лечење је настављено каспофунгином у дози од 50 mg дневно током 15 дана. Међутим, и поред наставка терапије вориконазолом и каназолом, фебрилност се одржавала и наредна два месеца. На контролном ултразвучном и *CT* прегледу установљено је да су хиподензне промене у јетри и слезини налик апсцесима и даље заступљене. Дошло је до рецидива основне болести, те је примењена хемиотерапија с *ara-C* ($3,8 \text{ g i.v.}$ од првог до четвртог дана), новантроном (20 mg i.v. од трећег до петог дана) и неупогеном (48 ИJ). Почетком новембра 2005. године болесник је егзитирао од основне болести.

ДИСКУСИЈА

Због све интензивније хемиотерапије и дугих и тешких периода неутропеније, током последњих неколико деценија учесталост гљивичних инфекција се стално повећава. Оне се често јављају код болесника с акутним леукемијама и другим хематолошким малигнитетима. Учесталост хепатоспленичне кандидијазе код болесника с АЛЛ је 1,8%, а с АМЛ 5,8% [8]. Други аутори наводе обрнут однос учесталости гљивичних инфекција: код болесника с АЛЛ 11,3%, а код болесника с АМЛ 5,1% [9]. Најзначајнији предиспонирајући фактор за развој ових инфекција је неутропенија ($<0,5 \times 10^9/l$) која траје дуже од десет дана [4].

Симптоми и знаци хепатоспленичне кандидијазе су: науzea, бол у трбуху и температура тела која не реагује на антибиотске лекове широког спектра. Хепато-

спленична кандидијаза се обично испољава тек када се број неутрофила врати на нормалне вредности, па се зато најчешће дијагностикује у ремисији [10]. Њена патогенеза још није јасна, али се претпоставља да је колонизација гљивицама гастроинтестиналног тракта главни извор инфекције и да запаљења или улцерације слузнице током периода неутропеније олакшавају дисеминацију гљивица најпре у јетри, затим у слезини и другим висцералним органима [4].

На хепатоспленичну кандидијазу треба мислити нарочито код болесника с акутном леукемијом. Повећање вредности трансминаза и алкалне фосфатазе пре појаве радиолошких знакова болести указује на захваћеност јетре. Ниво реактивног протеина С често је повећан изнад 50 mg/l . На *СТ* и *NMR* снимцима у јетри и слезини се види велики број лезија пречника $5\text{-}15 \text{ mm}$ [4]. На ултрасонограму лезије су хиперехогене. Типичне лезије на *СТ* снимку су сличне стрелачкој мети. Фокалне промене у јетри и слезини се на *СТ* и *NMR* снимку налазе код више од 90%, а на ултрасонограму код мање од 50% болесника [11]. Промене се обично не откривају у фази неутропеније, него тек када се број леукоцита повећа преко $0,5 \times 10^9/\text{l}$. Зато је важно да се код болесника који су се опоравили од неутропеније, а код којих се фебрилност одржава и поред примене антибиотске терапије, ултразвучни и *NMR* прегледи абдомена понављају неколико пута (ултразвук бар два пута недељно) док год болесник има температуру изнад 38°C [12].

У раној фази лезије се састоје од полиморфонуклеарних и мононуклеарних леукоцита, док се гљивице могу наћи само у центру лезије. На антигљивичну терапију микроапсцеси се трансформишу у лезије које се састоје од три слоја: периферног фиброзног, средњег (који чине лимфоцити, макрофаге и гигантске ћелије) и централног (у којем се могу наћи некротични гљивични елементи) [4, 7-12]. Због тога, узорак узет с периферије лезије често остаје негативан на гљивице. Како су и хемокултуре позитивне само код 20% болесника, дијагноза се поставља првенствено на основу клиничких, лабораторијских, ултразвучних и *СТ* налаза, а само додатно потврђује евентуалним налазом гљивица у хемокултури или апсцесу јетре.

Код клинички стабилних болесника Америчко друштво за инфективне болести (*The Infectious Disease Society of America – IDSA*) за лечење хепатоспленичне кандидијазе препоручује флуконазол у дози од 6 mg/kg дневно. Код болесника с тешким обликом болести и резистентних на терапију препоручује се примена амфотерицина Б деоксихолата у дози $0,6\text{-}0,7 \text{ mg/kg}$ дневно или липосомалног амфотерицина Б у дози $3\text{-}5 \text{ mg/kg}$ дневно, док се код болесника с рефрактерним обликом хроничне хепатоспленичне кандидијазе препоручује каспофунгин у дози од 50 mg на дан. Тера-

пијски одговор постиже се после дужег лечења, понекад тек за два-три месеца. Сматра се да је болесник излечен кад постане афебрилан и кад се лезије на ултразвучном, *СТ* и *NMR* налазу више не уочавају. Током примене антимицотика хемиотерапију, уколико је индикована, не треба прекидати [13, 14].

Профилактичком применом флуконазола (400 mg дневно) или итраконазола смањује се ризик од инвазивне гљивичне инфекције, нарочито сојевима из рода *Candida*, што су показали резултати рандомизиране контролисане студије која је обухватила испитанике који су примали флуконазол (400 mg на дан), где је учесталост гљивичних инфекција сведена на 6,3%, у поређењу са 24% у групи испитаника који су примали плацебо. Профилактику треба примењивати током периода неутропеније, када је ризик од гљивичних инфекција највећи [15].

ЛИТЕРАТУРА

1. Pfaller M, Wenzel R. Impact of the changing epidemiology of fungal infections in the 1990s. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11:287-91.
2. Pagano L, Mele L, Fianchi L, et al. Chronic disseminated candidiasis in patients with hematologic malignancies. Clinical features and outcome of 29 episodes. *Haematologica* 2002; 87(5):535-41.
3. Swerdloff JN, Filler SG, Edwards JE Jr. Severe candidal infections in neutropenic patients. *Clin Inf Dis* 1993; 17(Suppl 2):S457-467.
4. Cantu J. Hepatosplenic candidiasis in patients with acute leukemia. *The Internet Journal of Emergency and Intensive Care Medicine* 2005; Vol. 8. No. 2.
5. Čolović M, Lazarević V, Čolović R, et al. Hepatosplenic candidiasis after neutropenic phase of acute leukemia. *Medical Oncology* 1999; 16:139-42.
6. Thaler M, Pastakia B, Shawker TH, O'Leary TO, Pizzo PN. Hepatic candidiasis in immunocompromised patients. A new evolving syndrome. *Ann Intern Med* 1988; 108:80-100.
7. Berlow ME, Spirit BA, Weil L. CT follow-up of hepatic and splenic fungal microabscesses. *J Comput Assist Tomogr* 1984; 8:42-5.
8. Chen CY, Chen YC, Tang JL, et al. Hepatosplenic fungal infection in patients with acute leukemia in Taiwan: incidence, treatment, and prognosis. *Ann Hematol* 2003; 82(2):93-7.
9. Anttila VJ, Ruutu P, Bonderstram S, et al. Hepatosplenic yeast infection in patients with acute leukemia: a diagnostic problem. *Clin Infect Dis* 1994; 18:979-81.
10. Sallah S, Semelka RC, Wehbie R, Sallah W, Nguyen NP, Vos P. Hepatosplenic candidiasis in patients with acute leukemia. *Br J Haematol* 1999; 106:697-701.
11. Karthaus M, Ganser A. Hepatosplenic candidiasis in patients with acute leukemia. *Br J Haematol* 2000; 109:672.
12. Rossetti E, Brawner DL, Bowden R, et al. Fungal liver infections in marrow transplant recipients: prevalence at autopsy, predisposing factors, and clinical features. *Clin Infect Dis* 1995; 20:801-11.
13. Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, et al. Infectious Diseases Society of America. Guidelines for treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis* 2004; 38(2):161-89.
14. Sora F, Chiusolo P, Piccirillo N, et al. Successful treatment with caspofungin of hepatosplenic candidiasis resistant to liposomal amphotericin B. *Clin Infect Dis* 2002; 35(9):1135-6.
15. Rotstein C, Bow EJ, Laverdiere M, Ioannou S, Carr D, Moghaddam N. Randomized placebo-controlled trial of fluconazole prophylaxis for neutropenic cancer patients: benefit based on purpose and intensity of cytotoxic therapy. *Clin Infect Dis* 1999; 8:331-40.

HEPATOSPLENIC CANDIDIASIS IN ACUTE LEUKAEMIA PATIENTS

Zoran RAJIĆ¹, Nataša ČOLOVIĆ¹, Mirjana SRETENOVIĆ¹, Mira PLEČIĆ²,
Snežana JANKOVIĆ¹, Milena BAKRAČ¹, Milica ČOLOVIĆ¹

¹Institute of Haematology, Clinical Centre of Serbia, Beograd; ²Haematology Department, Valjevo Hospital, Valjevo

INTRODUCTION Hepatosplenic candidiasis is a disseminated invasive fungal infection that may affect patients with acute leukaemia. The main clinical manifestation is a persistent fever in patients recovered from prolonged neutropenia after recent chemotherapy.

CASE OUTLINE The authors present three patients, two women and one man, aged 23, 26 and 33 years, with acute leukaemia; one with acute myeloblastic and two with acute lymphoblastic leukaemia who developed hepatosplenic candidiasis. The diagnosis was based on prolonged fever, elevated serum bilirubin and alkaline phosphatase, as well as characteristic lesions on computed tomography, nuclear magnetic resonance and ultrasonographic findings and positive blood culture in one patient. The antifungal treatment was successful in one patient only. Two patients died due to progression of leukaemia.

CONCLUSION If leukaemia patient in remission after chemotherapy develops a prolonged fever of unknown origin, hepatosplenic candidiasis has to be considered and all efforts should be done to diagnose it. The diagnosis is based on clinical presentation and imaging techniques. The positive cultures of fungi are not usually possible and are not mandatory. The antifungal treatment may be prolonged, sometimes 2 to 3 months or even more.

Key words: liver; spleen; candidiasis

Nataša ČOLOVIĆ
Institut za hematologiju
Klinički centar Srbije
Dr Koste Todorovića 2, 11000 Beograd
Tel.: 011 361 5569
E-mail: marcolov@eunet.yu